

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* SERTA UJI TOKSISITAS EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) HASIL SONIKASI DENGAN VARIASI PREPARASI SAMPEL

SKRIPSI

Oleh:

ROHMATUL FAUZIYAH

NIM. 16630070



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* SERTA UJI TOKSISITAS EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) HASIL SONIKASI DENGAN VARIASI PREPARASI SAMPEL

SKRIPSI

Oleh:

ROHMATUL FAUZIYAH

NIM. 16630070

Diajukan Kepada:

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam

Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

PROGRAM STUDI KIMIA

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2021

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* SERTA UJI TOKSISITAS EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) HASIL SONIKASI DENGAN VARIASI PREPARASI SAMPEL

SKRIPSI

**Oleh :
ROHMATUL FAUZIYAH
NIM 16630070**

**Telah diperiksa dan disetujui untuk
diuji Pada tanggal 24 April 2021**

Menyetujui ,

Pembimbing I

Pembimbing II



**Eny Yulianti, M.Si
NIP.19760611 200501 2 006**



**Ahmad Hanapi, M.Sc
NIDT. 19851225 20160801 1 069**

**Mengetahui,
Ketua Program Studi**



**Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002**

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* SERTA UJI TOKSISITAS EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera* L.) HASIL SONIKASI DENGAN VARIASI PREPARASI SAMPEL

SKRIPSI

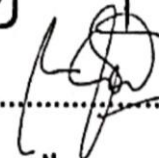
Oleh:
ROHMATUL FAUZIYAH
NIM. 16630070

Telah Dipertahakan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 14 Juni 2021

Penguji Utama : A. Ghanaim Fasya, M.Si
NIP. 19821101 200901 2 007

()

Ketua Penguji : Rifatul Mahmudah, M.Si
NIDT. 19830125 20160801 2 068

()


Sekretaris Penguji : Eny Yulianti, M.Si
NIP. 19760611 200501 2 006

()

Anggota Penguji : Ahmad Hanapi, M.Sc
NIDT. 19851225 20160801 1 069

()

Mengesahkan,
Ketua Program Studi

()
Elok Kamilah Mayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rohmatul Fauziyah
NIM : 16620070
Fakultas : Sains dan Teknologi
Program Studi : Kimia
Judul Penelitian : Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Bakteri Pseudomonas aeruginosa* Serta Uji Toksisitas Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Hasil Sonikasi Dengan Variasi Preparasi Sampel

Menyatakan dengan sebenarnya skripsi yang saya tulis ini merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut

Malang, 14 Juni 2021

Yang membuat pernyataan



Rohmatul Fauziyah
NIM.16630070

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil 'aalaamiin...

Dengan mengucapkan syukur yang mendalam kepada Allah SWT yang telah memberikan kekuatan dan kemudahan

Karya skripsi ini saya persembahkan untuk:

Bapak Khoirul Salim dan Ibu Nurul Armidayani yang selalu mendo'akan yang terbaik untuk kesuksesan anak-anaknya, dengan do'a dan dorongan bapak ibu saya dapat menyelesaikan skripsi ini

Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku dosen wali, yang telah memberikan motivasi. Ibu Eny Yulianti, M.Si dan Bapak Ahmad Hanapi, M.Sc selaku dosen pembimbing yang sabar dalam membimbing hingga terselesaikannya skripsi ini

Adik tercinta Rahmawati Hana Pratiwi dan Rahmawati Hani Pratiwi yang senantiasa memberi semangat dan memotivasi untuk mencapai target kelulusan kakaknya

Teman-teman peneliti di Lab Biokimia dan Lab Fisik terutama Cinty, Ida, Diyani, Fitria, Mila yang sukarela membantu dalam mengatasi semua persoalan penggunaan alat maupun metode penelitian, hingga terselesaikannya penelitian dan skripsi ini.

Teman teman sepermainan Fiki, Hasanah, Rana, Fatimah, Atik, Yuni, Muna, Luluk, Ica yang telah memberikan semangat, dukungan dan do'a, serta Kimia

Angkatan 2016, terimakasih sudah menjadi bagian hidup saya

Semoga karya tulis ini akan terkenang, dapat bermanfaat untuk orang lain dan barokah dunia akhirat.

Aamiin

MOTTO

“Untuk mendapatkan hasil yang baik, yang harus
dilakukan adalah memulai”

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis terhadap kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufiq, hidayah, dan inayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan hasil penelitian yang berjudul **“Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Serta Uji Toksisitas Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Hasil Sonikasi Dengan Variasi Preparasi Sampel”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains (S.Si) di Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Sholawat serta salam selalu dihaturkan kepada Nabi Muhammad SAW, sosok teladan yang membimbing kita kedalam jalan yang benar. Skripsi ini telah disusun dengan maksimal dan tidak lepas dari bantuan berbagai pihak sehingga dapat memperlancar penulisan laporan ini. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag selaku rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si selaku dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku ketua jurusan kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Eny Yulianti, M.Si selaku dosen pembimbing utama dan Bapak Ahmad Hanapi, M.Sc selaku dosen pembimbing agama yang telah meluangkan waktu untuk membimbing, memotivasi, mengarahkan, dan memberikan masukan dalam penyusunan naskah skripsi ini.
5. Seluruh Dosen Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmu, pengetahuan, pengalaman, wacana, serta wawasannya sebagai pedoman dan bekal bagi penulis.
6. Kedua orang tua tercinta, saudara-saudara, teman-teman, serta sahabat penulis yang selalu memberi motivasi kepada penulis.

Teman-teman mahasiswa Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang yang ikut berperan serta membantu baik secara langsung maupun

tidak langsung dalam pelaksanaan naskah skripsi dan pembuatan naskah skripsi ini.

7. Kepada semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah ikut memberikan bantuan dan motivasi selama penyusunan laporan skripsi ini.

Terlepas dari semua itu, penulis menyadari sepenuhnya bahwa masih terdapat kekurangan baik dari segi susunan kalimat maupun tata bahasanya. Oleh karena itu, dengan tangan terbuka penulis menerima segala saran dan kritik dari pembaca agar penulis dapat lebih baik lagi dalam penulisan laporan maupun karya tulis lainnya. Akhir kata, penulis berharap semoga laporan skripsi ini dapat memberikan manfaat maupun inspirasi terhadap pembaca.

Malang, 14 Juni 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
MOTTO	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
مستخلص البحث.....	xvii

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan	7
1.4 Batasan Masalah	7
1.5 Manfaat	8

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kelor (<i>Moringa oleifera</i>).....	9
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Kelor	10
2.1.2 Karakteristik Tanaman Kelor	10
2.1.3 Kandungan Nutrisi Daun Kelor	12
2.1.4 Kandungan Senyawa Aktif pada Daun Kelor sebagai Antibakteri	14
2.2 Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15
2.2.1 Karakteristik Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15
2.2.2 Patogenitas Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17
2.3 Metode Ekstraksi.....	18
3.3.1 Metode Ekstraksi Maserasi	18
3.3.2 Metode Ekstraksi Sonikasi.....	19
2.4 Pembuatan Media.....	20
2.5 Metode Pengeringan.....	21
2.6 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif	23
2.6.1 Triterpenoid.....	23
2.6.2 Steroid	24
2.6.3 Flavonoid	26
2.6.4 Alkaloid	27
2.6.5 Saponin.....	28
2.6.6 Tanin	29
2.7 Metode Pengujian Antibakteri	30
2.8 Uji Tosisitas dengan Metode BSLT	32

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian	37
3.2 Alat dan Bahan	37
3.2.1 Alat	37
3.2.2 Bahan	37
3.3 Tahapan Penelitian	38
3.4 Langkah Kerja	39
3.4.1 Preparasi Sampel	39
3.4.2 Analisis Kadar Air	39
3.4.3 Pembuatan Ekstrak Daun Kelor	39
3.4.2.1 Metode Maserasi	39
3.4.2.2 Metode Sonikasi	40
3.4.4. Uji Fitokimia	40
3.4.4.1 Uji Alkaloid	41
3.4.4.2 Uji Flavonid	41
3.4.4.3 Uji Tanin	41
3.4.4.4 Uji Saponin	41
3.4.4.5 Uji Steroid dan Triterpenoid	42
3.4.5 Analisis Aktivitas Antibakteri	42
3.4.5.1 Sterilisasi Alat	42
3.4.5.2 Pembuatan Media Agar Miring	42
3.4.5.3 Inokulasi Bakteri	43
3.4.5.4 Pembuatan Larutan Suspensi Bakteri Uji	43
3.4.5.5 Pembuatan Larutan Kontrol	44
3.4.5.6 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor	44
3.4.5.7 Pengukuran Zona Hambat Ekstrak Daun Kelor	44
3.4.4 Uji Toksisitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor	45
3.4.4.1 Penetasan Telur Larva Udang <i>Artemia salina</i> Leach	45
3.4.4.2 Uji Aktivitas Toksisitas Ekstrak Daun Kelor	45
3.4.5 Analisa Data	46
3.4.4.6 Analisis Data Uji Aktivitas Antibakteri	46
3.4.4.6 Analisis Data Uji Toksisitas	47

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel	48
4.2 Analisis Kadar Air	49
4.3 Pembuatan Ekstrak Daun Kelor	51
4.4 Uji Fitokimia	53
4.5 Uji Aktivitas Antibakteri	57
4.6 Uji Toksisitas Dari Hasil Uji Antibakteri Terbaik	62
4.7 Analisa Data	64
4.8 Pemanfaatan <i>Moringa oleifera</i> dalam Perspektif Islam	66

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan	70
5.2 Saran	70

DAFTAR PUSTAKA	71
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN	77
-----------------------	-----------

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan Gizi Daun Kelor Segar dan Daun Kelor Kering	13
Tabel 2.2 Kandungan Gizi Tepung Daun Kelor	13
Tabel 4.1 Berat Daun Kelor Sebelum dan Sesudah Dikeringkan	49
Tabel 4.2 Kadar Air Daun Kelor	50
Tabel 4.3 Rendemen Ekstrak Air Daun Kelor	52
Tabel 4.4 Hasil Uji Fitokimia Daun Kelor	55
Tabel 4.5 Hasil Rata Rata Zona Hambat Ekstrak Air Daun Kelor terhadap bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	58
Tabel 4.6 Mortalitas Larva Udang Ekstrak Sonikasi Kering Jemur	62
Tabel 4.7 Data Hasil Uji Statistika	64
Tabel 4.8 Hasil Uji BNT Variasi Jenis Ekstraksi	65
Tabel 4.9 Hasil Uji BNT Variasi Konsentrasi	65

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Gambar Daun Kelor	9
Gambar 2.2 Gambar Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16
Gambar 2.3 Kurva Pertumbuhan Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16
Gambar 2.4 Struktur Senyawa Triterpenoid	23
Gambar 2.5 Struktur Senyawa Steroid	25
Gambar 2.6 Struktur Senyawa Flavonoid	26
Gambar 2.7 Struktur Senyawa Alkaloid	27
Gambar 2.8 Struktur Senyawa Saponin Tipe Triterpenoid dan Struktur Senyawa Saponin Tipe Steroid	28
Gambar 2.9 Struktur Senyawa Tanin	29
Gambar 4.1 Zona Hambat Ekstrak Sonikasi Kering Jemur terhadap bakteri terhadap <i>P.aeruginosa</i> dan Zona Hambat Ekstrak Sonikasi Kering angin terhadap bakteri terhadap <i>P.aeruginosa</i>	60
Gambar 4.2 Zona Hambat Ekstrak Maserasi Kering Jemur terhadap bakteri terhadap <i>P.aeruginosa</i> dan Zona Hambat Ekstrak Maserasi Kering angin terhadap bakteri terhadap <i>P.aeruginosa</i>	60
Gambar 4.3 Kontrol Positif dan Kontrol Negatif Ekstrak hasil Sonikasi dan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif Ekstrak Hasil Maserasi.....	61
Gambar 4.4 Model Regresi Linier Probit Uji pada Minitab	63

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian	77
Lampiran 2 Diagram Alir	78
Lampiran 3 Perhitungan	90
Lampiran 4 Data dan Perhitungan Hasil Penelitian	94
Lampiran 5 Data Hasil Uji	97
Lampiran 6 Hasil Analisis Data	100
Lampiran 7 Dokumentasi	108

ABSTRAK

Fauziyah, Rohmatul. 2021. **Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Serta Uji Tosisitas Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Hasil Sonikasi Dengan Variasi Preparasi Sampel.**
Pembimbing I: Eny Yulianti, M.Si; Pembimbing II: Ahmad Hanapi, M.Sc

Kata Kunci : Daun *Moringa oleifera*, Sonikasi, *Pseudomonas aeruginosa*, Antibakteri, Toksisitas

Tanaman Kelor (*Moringa oleifera*) sering disebut sebagai pohon ajaib karena memiliki banyak manfaat. *Moringa oleifera* juga mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri, antioksidan dan sebagainya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak sonikasi daun kelor terhadap aktivitas antibakteri dengan konsentrasi 250 µg/ml, 500 µg/ml, 750 µg/ml, 1000 µg/ml dan 1250 µg/ml dengan metode difusi cakram dan variasi preparasi sampel berupa pengeringan angin dan pengeringan jemur. Hasil yang didapat pada uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada masing-masing konsentrasi adalah pada sonikasi kering jemur 2,2 mm, 3,2 mm, 3,9 mm, 4,6 mm dan 5,9 mm, pada sonikasi kering angin 1,9 mm, 2,7 mm, 3,9 mm, 4,9 mm dan 5,8 mm, pada maserasi kering jemur 1,7 mm, 2,7mm, 3,4 mm, 4,0 mm dan 4,9 mm dan pada maserasi kering angin 1,4 mm, 2,4 mm, 3,4 mm, 3,7 mm dan 4,7 mm. Selanjutnya diambil ekstrak terbaik dari hasil uji antibakteri yaitu pada sonikasi kering jemur untuk dilakukan uji toksisitas dengan BSLT menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach. Hasil dari uji toksisitas ekstrak sonikasi kering jemur mendapat nilai LC50 yaitu 183,115 ppm. Data yang diperoleh kemudian di analisis dengan uji two way ANOVA dan MINITAB.

ABSTRACT

Fauziyah, Rohmatul. (2021). **Antibacterial Activity Test Against *Pseudomonas aeruginosa* Bacteria and the Toxicity Test of *Moringa oleifera* Leaf Extract from Sonication Results with Variation in Sample Preparation**. Thesis. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang Malang. Supervisor I: Eny Yulianti, M.Si; Supervisor II: Ahmad Hanapi, M.Sc.

Keywords: *Moringa oleifera* leaf, Sonication, *Pseudomonas aeruginosa*, Antibacterial, Toxicity

The *Moringa oleifera* plant is often referred to as the magic tree because it has many benefits. *Moringa oleifera* also contains several secondary metabolites which can be used as research. This study aims to determine the inhibition of the sonicated extract of *Moringa* leaves against an antibacterial activity with concentrations of 250 µg/ml, 500 µg/ml, 750 µg/ml, 1000 µg/ml, and 1250 µg/ml with the disc diffusion method and sample preparation variations in the form of wind drying and drying. The results obtained in the antibacterial activity test against *Pseudomonas aeruginosa* bacteria at each concentration were in the sonication of dry in the sun, 2.2 mm, 3.2 mm, 3.9 mm, 4.6 mm, and 5.9 mm, on wind dry sonication 1.9 mm, 2.7 mm, 3.9 mm, 4.9 mm and 5.8 mm, on dry maceration in the sun 1.7 mm, 2.7mm, 3.4 mm, 4.0 mm and 4.9 mm and in wind dry maceration 1.4 mm, 2.4 mm, 3.4 mm, 3.7 mm and 4.7 mm. Furthermore, the best extract was taken from the results of the antibacterial test, namely the sonication of dry in the sun to do the toxicity test with BSLT using *Artemia salina* Leach shrimp larvae. The results of the toxicity test of sun-dried sonication extracts got the LC₅₀ value of 183,115 ppm. The data obtained were analyzed using two-way ANOVA and MINITAB tests.

مستخلص البحث

فوزية ، رحمة. (2021). اختبار النشاط المضاد للبكتيريا ضد بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* و اختبار السمية لمستخلص أوراق المورينجا أوليفيرا (*Moringa oleifera*) من نتيجة صوتنة مع تباين في تحضير العينة. البحث العلمي. قسم الكيمياء ، كلية العلوم و التكنولوجيا ، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف الأول: إيني يولياني الماجستير ؛ المشرف الثاني: أحمد حنفي الماجستير.

الكلمات المفتاحية: أوراق المورينجا أوليفيرا (*Moringa oleifera*) ، صوتنة ، *Pseudomonas aeruginosa* ، مضاد للبكتيريا ، السمية

غالبًا ما يُشار إلى نبات المورينجا أوليفيرا (*Moringa oleifera*) بالشجرة السحرية لأنه يحتوي على العديد من الفوائد. يحتوي المورينجا أوليفيرا أيضًا على العديد من المستقلبات الثانوية التي يمكن استخدامها كبحث. تهدف هذه الدراسة إلى تحديد تثبيط المستخلص الصوتي لأوراق المورينجا ضد النشاط المضاد للبكتيريا بتركيزات 250 ميكروغرام/مل ، 500 ميكروغرام/مل ، 750 ميكروغرام/مل ، 1000 ميكروغرام/مل و 1250 ميكروغرام/مل باستخدام طريقة الانتشار القرصي و الاختلافات في تحضير العينة في شكل التجفيف بالرياح و التجفيف في الشمس. كانت النتائج التي تم الحصول عليها في اختبار النشاط المضاد للبكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* عند كل تركيز صوتنة للجفاف في الشمس ، 2.2 مم ، 3.2 مم ، 3.9 مم ، 4.6 مم و 5.9 مم ، على صوتنة الرياح الجافة 1 ، 9 مم ، 2.7 مم ، 3.9 مم ، 4.9 مم ، 5.8 مم ، على النقع الجاف في الشمس 1.7 مم و 2.7 مم و 3.4 مم و 4.0 مم و 4.9 مم و في التعطين الجاف بالرياح 1.4 مم و 2.4 مم و 3.4 مم و 3.7 مم و 4.7 مم . علاوة على ذلك ، تم أخذ أفضل مستخلص من نتائج الاختبار المضاد للبكتيريا ، و هو صوتنة الجفاف في الشمس لإجراء اختبار السمية باستخدام اختبار إخماد القريدس النظيف (BSLT) باستخدام يرقات ارتيميا سالينا ليتش (*Artemia Salina Leach*) الروبيان. حصلت نتيجة اختبار السمية لمستخلص الصوتنة المجفف بالشمس على قيمة LC50 تبلغ 183115 جزء في المليون. تم تحليل البيانات التي تم الحصول عليها باستخدام اختبارين ANOVA و MINITAB.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tumbuhan merupakan sumber kehidupan yang didalamnya ada berbagai jenis senyawa kimia yang memiliki khasiat sebagai obat. Pemanfaatan tanaman sebagai obat sudah dilakukan sejak dulu. Perkembangan produksi tanaman obat semakin pesat sekarang karena adanya kesadaran masyarakat tentang pemanfaatan tumbuhan sebagai obat alami. Hal ini disebabkan karena relatif kecilnya efek samping yang ditimbulkan dari tanaman tersebut. Penelitian tentang bahan alam ini juga sudah banyak dilakukan salah satunya pada tanaman kelor (*Moringa oleifera*) (Djauhariya, 2004)

Tanaman Kelor (*Moringa oleifera*) sering disebut sebagai pohon ajaib karena memiliki banyak manfaat. Salah satunya adalah daun tanaman kelor mengandung protein, vitamin, asam amino dan bermacam fenolik yang baik. Selain itu kelor juga diketahui mengandung banyak senyawa yang digunakan untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit, seperti kolesterol, diabetes, hipertensi, tumor, bakteri, jamur, inflamasi dan masih banyak lainnya. Tanaman kelor dapat tumbuh di daerah subur di bawah iklim tropis dan dapat tumbuh dengan baik pada daerah tropis lembab atau tanah kering yang cukup panas. Sehingga tanaman ini mudah didapat (Toripah, 2014).

Pengobatan untuk penyakit infeksi saat ini adalah dengan obat-obatan sintesis. Tapi obat-obatan sintesis akan menyebabkan ketergantungan secara kimiawi dan adanya efek samping yang merugikan penderita. Sehingga menjadi tidak efektif dan aman. Untuk itu solusi yang paling tepat adalah menggunakan

bahan bahan alami yang terbuat dari tumbuh tumbuhan yang bermanfaat seperti tumbuhan kelor (*Moringa oleifera*) (Soemiati,2017).

Penelitian yang dilakukan oleh Vinay Kumar Verma dkk, 2012 mengatakan daun kelor bisa menghambat luka lambung dan saluran cerna. Selain itu menurut Dahot (1998) dalam ekstrak daun kelor mengandung protein dengan dengan berat molekul yang rendah dan memiliki aktivitas antibakteri dan antijamur. Dengan adanya penelitian itu tumbuhan kelor memungkinkan bisa untuk digunakan sebagai obat infeksi karena adanya bakteri. Dan juga akan aman ketika dijadikan obat karena terbuat dari bahan bahan alami.

Penyakit infeksi masih menempati urutan teratas penyebab penyakit dan kematian. Salah satu terjadinya infeksi adalah karena bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Bakteri ini biasa hidup di lingkungan tempat tempat basah, alat alat kedokteran rumah sakit, kamar mandi dan kulit manusia. Bakteri ini pada manusia menyebabkan infeksi darah, kulit, telinga, mata dan saluran kemih. Ketika kulit terbakar maka bakteri ini akan menyerang darah sehingga akan dihasilkan nanah. Selain itu bakteri ini juga bisa menyebabkan penyakit serius pada saluran pernafasan. Sehingga bakteri ini cukup serius untuk diteliti dan dicari obat untuk membunuh bakteri ini (Jawetz, 1991).

Perkembangan penyakit infeksi akibat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dari penelitian terdahulu oleh Dharmayanti (2019) tentang karakteristik bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan pola kepekaan terhadap antibiotik di Intensive Care Unit (ICU) RSUP Sanglah pada bulan November 2014 - Januari 2015 didapat data isolat *Pseudomonas aeruginosa* lebih banyak ditemukan pada pasien laki laki dibanding perempuan. Sebanyak 11 isolat ditemukan pada laki laki dan pada

perempuan sebanyak 4 isolat. Rentan usia dari data penelitian tersebut yaitu 0-5 tahun ditemukan 5 isolat, 25-45 tahun ditemukan 4 isolat, 46-65 tahun ditemukan 2 isolat dan >65 tahun ditemukan 4 isolat.

Bakteri juga salah satu bentuk ciptaan Allah yang sangat bermanfaat, karena dengan adanya bakteri *Pseudomonas aeruginosa* kita bisa belajar dan menemukan obat yang digunakan untuk menyembuhkan infeksi akibat bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Di Dalam Al-Qur'an dijelaskan tentang keberadaannya di surah An-Nahl (13)

وَمَا ذَرَأْنَا لَكُمْ فِي الْأَرْضِ مُخْتَلِفًا أَلْوَانُهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَذَّكَّرُونَ

Yang artinya “ *Dan Dia (menundukkan pula) apa yang Dia ciptakan untuk kamu di bumi ini dengan berlain-lain macamnya. Sesungguhnya pada demikian itu benar benar terhadap tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang mengambil pelajaran*” (Q.S An-Nahl: 13)

Ayat diatas menjelaskan bahwa Allah SWT telah menciptakan makhluk hidup yang beraneka ragam mulai dari yang dapat dilihat mata langsung seperti bakteri. Untuk melihat bakteri dibutuhkan alat bantu seperti mikroskop. Bakteri sendiri ada yang dibutuhkan untuk tubuh dan ada yang bakteri jahat yang tidak dibutuhkan tubuh. Bakteri jahat sekalipun masih ada manfaatnya karena dengan adanya bakteri jahat maka akan ada penelitian sehingga obat obat akan muncul. Selain itu senyawa antibakteri dari daun kelor dapat menghancurkan membran sel bakteri seperti saponin, triterpenoid dan tanin.

Penelitian diawali dengan preparasi sampel. Preparasi yang dilakukan dengan pengeringan angin dan pengeringan jemur. Variasi pengeringan ini dilakukan karena nantinya akan dibandingkan hasil terbaik dari pengeringan angin dan pengeringan jemur. Penelitian Wahyuni (2014) tentang pengaruh pengeringan jemur, oven dan angin terhadap ekstrak daun sambiloto ada perbedaan yang

signifikan. Perbedaan yang terjadi ada pada susut pengeringan, abu total, abu tidak larut asam, kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol yang akan mempengaruhi hasil ekstrak.

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode sonikasi dan maserasi. Metode maserasi adalah metode ekstraksi dengan cara merendam simplisia dengan pelarut. Metode maserasi ini sudah sering dilakukan. Penelitian terdahulu Vinoth (2012) membuat ekstrak air daun kelor dan melakukan uji fitokimia mendapatkan diameter zona hambat dan senyawa apa saja yang terkandung dalam daun kelor, seperti flavonoid, saponin, tannin, glikosida dan terpenoid. Sehingga metode maserasi digunakan sebagai pembanding, karena sudah banyak digunakan dalam suatu penelitian.

Metode sonikasi adalah metode ekstraksi menggunakan ultrasonik dengan frekuensi yang berbeda beda. Sonikasi digunakan karena pada metode ini tidak membutuhkan banyak pelarut, tidak membutuhkan banyak waktu dan hasil ekstrak yang dihasilkan bisa menyamai hasil ekstrak metode yang lainnya (Sholihah, 2017). Penelitian terdahulu dari Sondari (2016) tentang pengaruh metode terhadap hasil rendemen. Rendemen dari metode maserasi yang dilakukan selama 1x24 jam adalah 15,85 mg/gr, rendemen dari sokletasi yang dilakukan selama 8 jam adalah 3,86 mg/gr dan rendemen hasil sonikasi dilakukan selama 60 menit adalah 7,54 mg/gr. Perlakuan itu dibuat dengan pelarut yang sama. Penelitian Handayani (2016) tentang ekstraksi daun sirsak menggunakan sonikasi dengan variasi bahan : pelarut (1:5, 1:10 dan 1:15) dan lama ekstraksi (10, 15 dan 20 menit). Perlakuan terbaik ada pada rasio bahan per pelarut 1:10 dan lama waktu ekstraksi 20 menit dengan rendemen 11,72%. Pembuatan ekstrak daun

kelor untuk dibuat perbandingan antara metode maserasi dan sonikasi disamakan pelarut dan rasio bahan dibanding pelarutnya. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan pelarut aquades. Pelarut aquades digunakan karena ekstrak daun kelor akan digunakan sebagai obat yang akan dikonsumsi masyarakat dan masyarakat terbiasa menggunakan aquades. BPOM RI (2012) cairan penyari untuk keperluan farmakologi hanya diperbolehkan menggunakan air atau etanol.

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar dengan kertas cakram. Metode difusi cakram dilakukan dengan dimana media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri kemudian dimasukkan kertas cakram dalam media dan diisi dengan senyawa uji (Katrin, 2015). Teknik yang digunakan untuk isolasi bakteri untuk uji aktivitas adalah pour plate. Teknik pour plate ini dilakukan dengan cara mencampurkan beberapa ml suspensi bakteri dengan medium yang masih cair atau belum membeku sehingga akan didapat campurannya (Pleazar, 2006). Penelitian Widowati (2014) Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) terhadap Bakteri Pembusuk Ikan Segar (*Pseudomonas aeruginosa*) menggunakan metode difusi cakram dengan konsentrasi 0%, 25%, 50%, 75% dan 100% dengan 5 kali pengulangan menunjukkan hasil yang berpengaruh signifikan. Penelitian Yovitasari (2018) Uji daya hambat Ekstrak daun sirsak dengan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan metode difusi agar menggunakan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% dengan 3 kali pengulangan. Didapat rata rata zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 3,8 mm, 5,2 mm, 8,3 mm dan 12,4 mm. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* zona hambatnya sebesar 3,8 mm, 5,2 mm, 8,3 mm dan 11,4 mm. Metode pengujian tahap akhir dilakukan dengan

menggunakan brine shrimp (udang laut) jenis *Artemia salina* Leach. Nantinya akan didapat nilai LC_{50} (Lethal Concentration 50) yaitu nilai konsentrasi suatu zat yang dapat menyebabkan 50 % kematian hewan uji pada saat masa inkubasi selama 24 jam (Kristanti, dkk, 2008). Ekstrak uji dikatakan toksik apabila $Lc_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$. Metode ini digunakan karena sudah sering digunakan, relatif murah, cepat dan hasilnya dapat dipercaya (Meyer, dkk, 1982). Penelitian Fadli (2019) melakukan uji toksisitas daun Salam dengan metode BSLT dengan konsentrasi 1000, 750, 500, 250 dan 100 $\mu\text{g/mL}$ dan pengulangan 3 kali. Hasil dari penelitian didapat nilai LC_{50} 347,2162 $\mu\text{g/mL}$. Sehingga ekstrak daun Salam dengan konsentrasi tersebut berpotensi toksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dengan nilai $Lc_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$.

Penelitian Anwar (2014) dilakukan dengan membandingkan toksisitas ekstrak air daun kelor antara suhu panas dan suhu kamar. Didapat hasil LC_{50} pada akuades suhu kamar 265,997 ppm dan pada suhu panas 163,979 ppm. Sehingga kedua ekstrak dengan variasi suhu kamar dan suhu panas toksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. Sehingga toksisitas ekstrak akuades daun kelor lebih optimal pada suhu panas daripada suhu kamar. Penelitian Meyer, dkk (1982) menyatakan bahwa, jika suatu ekstrak menghasilkan nilai LC_{50} 30-200 ppm maka ekstrak tersebut memiliki potensi sebagai antimikroba, sedangkan jika ekstrak menghasilkan nilai LC_{50} 200-1000 ppm maka ekstrak tersebut memiliki potensi sebagai anti pestisida. Sehingga ekstrak daun kelor akuades suhu kamar memiliki potensi sebagai anti pestisida dan ekstrak daun kelor suhu panas memiliki potensi sebagai antimikroba.

1.2 Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang diatas rumusan masalah dalam penelitian ini, adalah :

1. Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak air daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan variasi preparasi?
2. Bagaimana uji toksisitas ekstrak air daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) metode BSLT dari hasil uji antibakteri terbaik?

1.3 Tujuan

Berdasarkan latar belakang diatas tujuan dalam penelitian ini, adalah :

1. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak air daun kelor (*Moringa oleifera*) hasil sonikasi terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan variasi preparasi sampel.
2. Untuk mengetahui toksisitas ekstrak air daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dari hasil uji antibakteri terbaik.

1.4 Batasan masalah

Batasan masalah penelitian ini, adalah :

1. Daun kelor (*Moringa oleifera*) yang digunakan dalam penelitian ini didapat dari area Kediri.
2. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi daun kelor (*Moringa oleifera*) yaitu air
3. Variasi preparasi sampel yang digunakan yaitu dengan pengeringan angin dan pengeringan jemur.
4. Ekstraksi dilakukan dengan maserasi dan sonikasi.

5. Pengujian antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100% dan 125%.
6. Pengujian toksisitas dilakukan dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) pada konsentrasi 0 ppm, 25 ppm, 100 ppm, 200 ppm dan 400 ppm.

1.5 Manfaat

Manfaat penelitian ini adalah memberi informasi, pemahaman dan gambaran bahwa adanya daun kelor bisa digunakan sebagai berbagai macam obat terutama sebagai zat antibakteri. Sehingga memberi motivasi pada masyarakat untuk menggunakan bahan alam sebagai zat antibakteri yang akan meningkatkan nilai ekonomi tanaman kelor.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kelor

Tanaman kelor (*Moringa oleifera*) adalah tanaman yang berpotensi sebagai tanaman obat. Disebut sebagai pohon ajaib, karena memiliki banyak manfaat. Salah satunya karena adanya kandungan protein, vitamin, asam amino dan bermacam macam fenolik yang baik. Selain itu daun kelor juga diketahui mengandung banyak senyawa yang digunakan untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit, seperti kolesterol, diabetes, hipertensi, tumor, bakteri, jamur, inflamasi dan masih banyak lainnya (Kuntari,2017)



Gambar 2.1 Daun Kelor

Tanaman kelor adalah salah satu contoh dari tanaman yang banyak manfaatnya. Karena Allah SWT tidak mungkin menciptakan sesuatu yang tidak ada manfaatnya seperti dalam surah. QS. Al-Baqarah (2) : 164

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمُوتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ وَالْفُلْكِ الَّتِي تَجْرِي فِي الْبَحْرِ بِمَا يَنْفَعُ النَّاسَ وَمَا أَنْزَلَ اللَّهُ مِنَ السَّمَاءِ مِنْ مَّاءٍ فَأَحْيَا بِهِ الْأَرْضَ بَعْدَ مَوْتِهَا وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَتَصْرِيفِ الرِّيْحِ وَالسَّحَابِ الْمُسَخَّرِ بَيْنَ السَّمَاءِ وَالْأَرْضِ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ

Yang artinya “Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, silih bergantinya malam dan siang, bahtera yang berlayar di laut membawa apa yang berguna bagi manusia, dan apa yang Allah turunkan dari langit berupa air, lalu dengan air itu Dia hidupakan bumi sesudah mati (kering)-nya dan Dia sebarkan di

bumi itu segala jenis hewan, dan pengisaran angin dan awan yang dikendalikan antara langit dan bumi; sungguh (terdapat) tanda-tanda (keesaan dan kebesaran Allah) bagi kaum yang memikirkan”

Ayat diatas menjelaskan tentang bahwa Allah tidak mungkin menciptakan sesuatu yang tidak ada manfaatnya atau sia sia. Semua yang diciptakan Allah pasti bermanfaat. Salah satunya adalah tanaman kelor. Tanaman kelor merupakan salah satu tanaman obat, karena tanaman kelor (*Moringa oleifera*) mengandung zat fitokimia yang membuatnya mampu mempertahankan diri. Zat fitokimia yang ada dalam daun kelor diantaranya ada tanin, steroid, triterpenoid, flavonoid, saponin, antrakuinon, alkaloid dan gula pereduksi. Senyawa senyawa itu yang nantinya dapat menjadi obat (Mardiana,2012).

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Kelor

Klasifikasi tanaman kelor (*Moringa oleifera*) secara ilmiah yaitu sebagai berikut (Krisnadi, 2015).

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Dilleniidae
Ordo	: Capparales
Famili	: Moringaceae
Genus	: Moringa
Spesies	: <i>Moringa oleifera</i>

2.1.2 Karakteristik Tanaman Kelor

Tanaman kelor (*Moringa oleifera*) memiliki morfologi berupa tinggi batang 7-11 meter, batang berkayu getas atau mudah patah, akar tunggang, daunnya majemuk. Saat tanaman kelor masih muda maka daunnya akan berwarna

hijau muda, sedangkan setelah dewasa daun tanaman kelor menjadi hijau tua. Tanaman kelor memiliki bunga yang berwarna putih kekuningan dan berbau semerbak. Tanaman kelor juga memiliki bentuk buah segitiga memanjang.(Utami,2013).

Daun kelor dapat dipanen setelah tanaman tumbuh sekitar 1,5 hingga 2 meter. Tanaman kelor dapat tumbuh di dataran rendah sampai ketinggian ± 1000 dpl. Tanaman kelor juga merupakan tanaman yang berumur panjang. Selain itu tanaman kelor juga merupakan tanaman yang bisa menyesuaikan keadaan lingkungannya sehingga dia juga mudah tumbuh dalam keadaan ekstrim. Ketika musim kering yang panjang tanaman kelor dapat tumbuh dan ketika ada daerah dengan curah hujan tahunan tanaman kelor akan tumbuh dengan baik. Sehingga tanaman ini mudah untuk dicari dan bisa dijadikan sebagai bahan penelitian (Widowati,2014).

Semua bagian dari tanaman kelor baik daun, biji, batang dan semuanya memiliki manfaat, terutama pada daun. Daun tanaman kelor banyak ditemukan mengandung komposisi yang penting, yaitu ada sebagai sumber protein, vitamin, mineral, asam amino dan banyak fenolik lain yang baik (Anwar,2007). Salah satu zat yang ada pada daun tanaman kelor (*Moringa oleifera*) adalah fitokimia yang bisa digunakan sebagai senyawa antibakteri seperti saponin, triterpenoid dan tanin. Senyawa antibakteri ini yang bisa merusak membran sel bakteri, sehingga bakteri akan mati.

Menurut penelitian Anwar,dkk (2007) ada bagian bagian dari kelor yang mengandung senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri, antitumor, antijamur, antihipertensi dan menurunkan kolesterol. Selain itu daun tanaman

kelor juga digunakan untuk menambah malnutrisi dan digunakan untuk mengatasi efek buruk dari penyakit dan infeksi. Ada banyak nilai gizi dari daun kelor tergantung faktor dari latar belakang genetik, lingkungan dan metode penanamannya. Ekstrak daun kelor juga mengandung protein yang mempunyai aktivitas antibakteri dan antijamur ((Wulandari, Sholikhah, and Wulan 2017)Brisibe et al., 2009).

Daya hambat ekstrak ditunjukkan dengan ada atau tidaknya zona bening di sekitar cakram kertas yang sudah direndam kedalam ekstrak dengan berbagai variasi konsentrasi. Zona bening tersebut merupakan daerah difusi ekstrak yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Kekuatan zat antibakteri dari ekstrak yang digunakan dilihat dari besar diameter zona hambat yang terbentuk. Penggolongan kekuatan antibakteri dilihat berdasarkan diameter yang diperoleh pada zona hambat di daerah sekitar kertas cakram. Ekstrak dengan diameter hambat < 5 mm termasuk kategori lemah, diameter hambat sekitar 5 - 10 mm termasuk kategori sedang, diameter hambat sekitar 10 - 20 mm termasuk kategori kuat, dan diameter hambat > 20 mm termasuk kategori sangat kuat (Oroh, dkk., 2015).

2.1.3 Kandungan Nutrisi Daun Kelor

Kandungan gizi dalam tanaman kelor pada daun sangat banyak. Diantaranya yaitu protein, lemak dan yang lainnya. Kandungan daun kelor segar dan daun kering juga berbeda. Seperti pada daun segar memiliki kadar air yang lebih tinggi dari pada daun kering. Dan komposisi selain kadar air, yaitu protein, lemak, kadar abu, karbohidrat, serat, kalsium dan energi dibanding daun segar, daun kering memiliki komposisi yang lebih besar. Maka dari itu pada penelitian

dilakukan pengeringan daun kelor. Karena pengeringan memiliki peranan penting dalam presentase nutrisinya (Wulandari, 2017).

Tabel 2.1 Kandungan gizi daun kelor segar dan daun kelor kering

Kandungan Gizi	Daun Segar	Daun Kering
Kadar air (%)	94,01	4,09
Protein (%)	22,7	28,44
Lemak (%)	4,65	2,74
Kadar Abu	-	7,95
Karbohidrat (%)	51,66	57,01
Serat (%)	7,92	12,63
Kalsium (mg)	350-550	1600-2200
Energi (Kcal/100 gr)	-	307,30

Sumber : Aminah et.al (2015)

Daun kelor juga akan lebih awet dan mudah disimpan apabila daun kelor dimanfaatkan dalam bentuk serbuk. Pada proses penyerbukan akan menambah kadar nutrisinya pada serbuk. Menurut penelitian McLellan et al., (2010) bahwa tepung daun kelor bisa dijadikan suplemen yang bergizi sebagai penambah nutrisi dan protein pada makanan anak-anak. Sehingga kebutuhan protein dan nutrisi mikro anak bisa terpenuhi.

Tabel 2.2 Kandungan gizi tepung daun kelor

Komponen Nutrisi	Tepung Daun Kelor
Kadar air (%)	7,5
Protein (gr)	27,1
Lemak (gr)	2,3
Karbohidrat (gr)	38,2
Serat (gr)	19,2
Kalori (Kcal/100 gr)	205
Kalsium (mg)	2003
Kalium (mg)	1324
Vitamin C (Ascorbic acid) (mg)	17,3
Vitamin A (B carotene) (mg)	16,3
Vitamin B1 (Thianin) (mg)	2,64
Vitamin B2 (Riboflavin) (mg)	20,5
Vitamin E (Tocopherol) (mg)	113

Sumber : Fuglie (1999)

2.1.4 Kandungan Senyawa Aktif pada Daun Kelor sebagai Antibakteri

Pemanfaatan bahan alam sebagai obat cenderung meningkat dengan adanya pola pikir *back to nature* (Beers, 2010) dan obat dengan bahan alami dinilai lebih aman karena efek samping yang dimiliki relatif lebih rendah daripada obat konvensional (Ardani, dkk, 2010). Kandungan metabolit sekunder seperti alkaloid, tanin, triterpenoid dan saponin pada tumbuhan memiliki efek terapi yang dapat digunakan sebagai pengobatan (Trisharyanti, 2017). Penelitian tentang tanaman obat sudah banyak dilakukan termasuk penelitian potensi antibakteri suatu tanaman obat. Salah satu alternatif tanaman obat untuk penelitian ini adalah daun kelor. Ekstrak air daun kelor (*Moringa oleifera*) mengandung berbagai jenis senyawa metabolit sekunder antara lain fenol, flavonoid, saponin, steroid dan triterpenoid (Rijayanti, 2014). Skrining fitokimia juga penting dilakukan pada penelitian ini untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam daun kelor (Savitri, 2020).

Penelitian Vinoth (2012) tentang Phytochemical Analysis and Antibacterial Activity of *Moringa oleifera* Lam. melakukan uji fitokimia dengan menggunakan ekstrak air daun kelor dan didapat hasil positif pada flavonoid, tanin, glikosida dan terpenoid. Penelitian Anwar (2014) juga menguji fitokimia hasil ekstrak air daun kelor dan didapatkan hasil positif pada alkaloid, flavonoid, tanin dan triterpenoid. Daun kelor memiliki senyawa antibakteri seperti saponin, triterpenoid dan tanin yang memiliki mekanisme kerja dengan merusak membran sel bakteri, sehingga daun kelor (*Moringa oleifera*) memiliki kemampuan untuk menghambat atau bahkan membunuh sel bakteri (Fuglie, 2001)

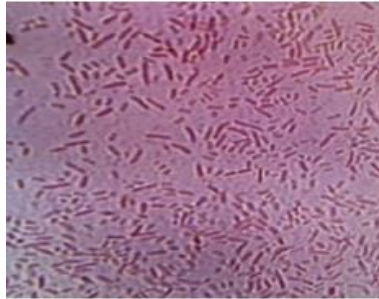
2.2 Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

2.2.1 Karakteristik Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri yang bergram negatif yang memiliki morfologi berupa bentuk batang ukuran sekitar $0,6 \times 2 \mu\text{m}$, bersifat aerob, katalase positif, oksidase positif, tidak mampu memfermentasi tetapi dapat mengoksidasi glukosa atau karbohidrat lain, tidak berspora, tidak memiliki selubung dan mempunyai flagel monotrika. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* juga memiliki bentuk koloni besar dan halus dengan permukaan yang rata dan meninggi. Bakteri ini juga cukup sering menghasilkan pigmen piosianin, pigmen kebiru biruan yang tidak berfluoresensi, yang berdifusi kedalam agar. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat tumbuh dengan baik pada suhu $37^{\circ}\text{C} - 42^{\circ}\text{C}$. Pada suhu 42°C menjadi pembeda bakteri ini dengan *Pseudomonas* lainnya (Jawetz et al., 2005)

Bakteri gram positif terlihat berwarna ungu karena asam asam ribonukleat pada sitoplasma sel sel gram, positif membentuk ikatan yang lebih kuat dengan kompleks ungu Kristal violet sehingga ikatan kimiawi tersebut tidak mudah dipecahkan oleh pemucat warna (Hadioetomo, 19993). Reaksi tersebut didasarkan atas perbedaan komposisi kimiawi dinding sel. Sel gram positif mempunyai dinding dengan lapisan peptidoglikan yang tebal (Sunatmo, 2007). Bakteri gram negatif akan terlihat berwarna merah muda. Bakteri gram negatif mengandung lipid dan lemak dalam persentase yang lebih tinggi daripada bakteri gram positif (Sunatmo, 2007) Bakteri gram negatif juga memiliki peptidoglikan yang lebih tipis daripada bakteri gram positif (Sunatmo, 2007). Kontrol yang digunakan pada

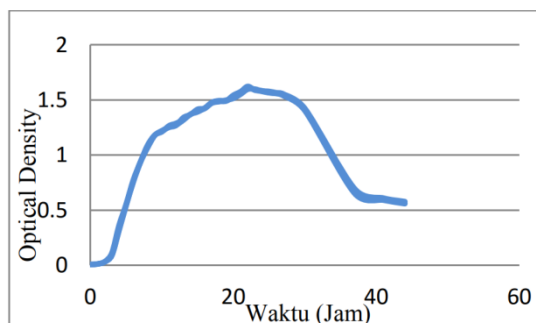
obat doxycycline adalah kontrol positif meskipun bakteri gram positif atau negatif.



Gambar 2.2 Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Sulviana,2017)

Klasifikasi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah (Siegrist,2010)

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Pseudomonadales
Famili	: Pseudomonadaceae
Genus	: Pseudomonas
Spesies	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>



Gambar 2.3 Kurva Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Sa'adah, 2016)

Gambar 2.3 menunjukkan bahwa 0-1 jam pertama merupakan fase lag atau fase penyesuaian dimana bakteri beradaptasi dengan lingkungan baru. 2-24 jam merupakan fase log atau fase eksponensial yaitu bakteri mengalami perubahan yang sangat pesat. Fase log ini akan digunakan sebagai waktu inkubasi bakteri karena fase ini bakteri akan tumbuh dengan cepat. 25-27 jam merupakan fase

stasioner dimana bakteri akan berhenti tumbuh dan akan tetap. 28 keatas adalah fase kematian dimana bakteri akan mengalami kematian yang menyebabkan kurva turun. Jika dilihat dari nilai OD juga sama ketika fase lag nilai OD nya 0-0,1, pada fase log/eksponensial nilai OD 0,2-1,6, fase stasioner 1,6-1,5 dan pada fase kematian nilai OD nya 1,4-0,5 (Sa'adah, 2016).

2.2.2 Patogenitas Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Infeksi masih menjadi jenis penyakit yang paling banyak diderita oleh penduduk di negara berkembang salah satunya Indonesia. Penyebab infeksi biasanya adalah bakteri. Bakteri digolongkan menjadi beberapa kelompok, salah satunya adalah bakteri patogen. Bakteri patogen tergolong menjadi bakteri berbahaya karena menyebabkan infeksi. Jenis bakteri ini antara lain *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Jawetz, 2001). Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* biasanya menyebabkan infeksi pada gangguan sistem imun. Bakteri ini juga menjadi patogen pada daerah yang pertahanannya lemah seperti ketika kulit terluka, kemoterapi kanker dan yang lainnya. Bakteri ini akan menempel dan membentuk koloni pada mukosa atau kulit dan akan menginfeksi. Pada kulit yang terkena bakteri ini akan menimbulkan pus hijau kebiruan (Sulviana, 2016).

Kebanyakan infeksi dari bakteri ini bersifat invasif dan toksigenik, dan yang paling utama terjadi dalam 3 fase yang berbeda yaitu perlekatan bakteri dan kolonisasi, invasi lokal dan penyebaran penyakit sistemik. Pencegahan terhadap infeksi bisa dilakukan dengan antibiotik. Seiring dengan terus berkembangnya bakteri di dunia kesehatan, sehingga perlu adanya obat yang terus berkembang

juga yang diperoleh dari senyawa senyawa bioaktif yang terkandung dalam tanaman. Senyawa bioaktif bisa didapat dari hasil ekstraksi.

2.3 Metode ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan dengan pelarut yang melibatkan perpindahan zat terlarut kedalam pelarut. Ekstraksi digunakan pada proses pemisahan senyawa bioaktif dari tumbuhan dalam rangka mengetahui rendemen yang akan dihasilkan. Beberapa jenis yaitu ekstraksi dengan cara panas dan ekstraksi dengan cara dingin. Ekstraksi dengan cara dingin biasanya digunakan untuk bahan alam yang tidak tahan terhadap panas dan bahan alam yang bertekstur lunak seperti, daun dan bunga. Kelebihan ekstraksi dengan cara dingin yaitu metode ini sederhana, tidak memerlukan alat yang rumit dan relatif murah (Ansel, 2005). Faktor faktor yang mempengaruhi ekstraksi adalah suhu, lama ekstraksi, jenis pelarut, ukuran partikel, pH media ekstraksi, jumlah ekstraksi dan degradasi senyawa selama ekstraksi berlangsung (Savova, *dkk*, 2007).

2.3.1 Metode ekstraksi maserasi

Maserasi merupakan cara sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia kedalam pelarut. Pelarut tersebut akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat zat aktif, sehingga zat zat aktif itu akan larut. Pelarut yang digunakan bisa berupa air, etanol, air-etanol dan lain sebagainya. Metode maserasi biasanya relatif lama, tetapi bisa dipercepat dengan pengadukan menggunakan *shaker* yang berkekuatan 120 rpm selama 24 jam (Yustina, 2008).

Penelitian Suhartati (2016) ekstraksi daun ashitaba metode maserasi dengan menggunakan pelarut air. Uji aktivitas antibakteri menggunakan difusi dengan konsentrasi 1%, 2%, 4%, 6%, 10%, 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. Didapat diameter zona hambat sebesar 6,08 mm, 6,93 mm, 7,97 mm, 8,08 mm, 10,18 mm, 13,75 mm, 15,41 mm, 16,36 mm, 17,20 dan 18,78.

2.3.2 Metode ekstraksi sonikasi

Sonikasi adalah prosedur yang menggunakan alat ultrasonik dengan frekuensi 20 kHz – 2000 kHz. Prinsip sonikasi yaitu menggunakan gelombang yang merambat didalam medium dan meningkatkan permeabilitas dinding sel. Saat gelombang merambat, medium yang dilewatinya akan mengalami getaran. Getaran tersebut akan memberikan pengadukan yang intensif terhadap proses ekstraksi. Pengadukan akan meningkatkan osmosis antara bahan dengan pelarut sehingga akan meningkatkan proses ekstraksi (Depkes RI, 2000).

Faktor ekstraksi juga dapat mempengaruhi ekstraksi sonikasi/ultrasonik. Kelebihan ekstraksi sonikasi yaitu proses ekstraksi berlangsung dengan cepat daripada metode ekstraksi konvensional (Garcia dan Castro, 2004). Selain itu metode ini juga lebih aman (Zou, dkk) dan meningkatkan jumlah rendemen (Supardan, dkk, 2011). Penelitian Fuadi (2012) tentang ekstraksi ultrasonik sebagai alat bantu ekstraksi oleoresin jahe meningkatkan hasil rendemennya yaitu sebesar 7,434% dalam waktu 4 jam, sedangkan pada metode sokletasi rendemen yang sama dalam waktu 7 jam. Sehingga akan lebih efisien waktu dengan ekstraksi menggunakan ultrasonic.

Berdasarkan penelitian terdahulu Sabathani (2018) tentang pembuatan ekstrak daun pepaya dengan metode sonikasi menggunakan pelarut air dengan waktu 12 menit dan 3,51 menit dengan rasio bahan per pelarut yaitu 17,75 gr/100 ml menghasilkan rendemen 3,35% dan 0,68%. Sehingga pada penelitian sabathani waktu optimumnya yaitu 12 menit. Pada penelitian Agustina (2018) Ekstraksi Antioksidan *Spirulina* sp. dengan metode sonikasi, pelarut air dan etanol selama 15, 30 dan 45 menit. Hasil terbaik didapat pada 15 menit yaitu dengan rendemen 37,15%. Pada penelitian Verdiana (2018) ekstrak kulit buah lemon dengan metode sonikasi dengan pelarut air selama 60 menit didapat rendemen 34,32%.

Menurut penelitian Ardanti dan Kusnadi (2014) ekstraksi daun berenuk menggunakan metode sonikasi dengan rasio bahan : pelarut adalah (1:9, 1:10 dan 1:11) dengan waktu 10,20 dan 30 menit. Menghasilkan rasio bahan : pelarut terbaik adalah 1:10 dengan waktu 20 menit yaitu rendemennya 26,24%. Penelitian Sabhatani (2018) sonikasi dengan air dengan variasi waktu 14,36 menit dan variasi berat per volume 16,29 gram yaitu menghasilkan zona hambat 3,125 mg/ml, 6,125 mg/ml dan 12,5 mg tidak berpengaruh signifikan dan pada konsentrasi 25 mg/ml, 50 mg/ml dan 100 mg/ml berpengaruh signifikan. Sehingga ekstraksi dengan menggunakan sonikasi akan lebih menguntungkan.

2.4 Pembuatan media

Media adalah bahan yang terdiri dari campuran nutrisi (zat makanan) yang dipakai untuk menumbuhkan, mengisolasi, memperbanyak dan pengujian sifat mikroba (Khaeruni dan Satrah, 2017). Bahan dasar media adalah air (H₂O) sebagai pelarut dan agar-agar (rumput laut) sebagai pemadat media. Media biakan

yang baik akan membantu optimalisasi pertumbuhan mikroorganisme (Suardana dkk, 2014).

Sebelum dilakukan pembuatan media alat alat yang digunakan harus disterilisasi terlebih dahulu agar mematikan seluruh mikroorganisme yang akan mengganggu dalam proses pertumbuhan bakteri yang akan diuji. Sterilisasi dilakukan dengan membungkus peralatan untuk pembuatan media dengan alumunium foil dan di oven selama 2 jam dengan suhu $171^{\circ}\text{C} - 250^{\circ}\text{C}$ (Lay, 1992).

2.5 Metode Pengeringan

Metode pengeringan pada penelitian ini adalah menggunakan *rotary evaporator*. *Rotary evaporator* digunakan untuk menghilangkan pelarut secara efisien dan perlahan lahan. Sistem *rotary evaporator* adalah menurunkan tekanan disekitar cairan sampel yang akan menurunkan titik didih dari komponen dalam cairan atau larutan tersebut. *rotary evaporator* digunakan pada komponen pelarut yang akan dihilangkan dari sampel setelah ekstraksi segera setelah diisolasi dari produk tersebut. Dengan *rotary evaporator* akan didapatkan cara penguapan pelarut tanpa pemanasan berlebih dan terhindar dari resiko merusak sampel. *Rotary evaporator* diterapkan untuk memisahkan pelarut yang telah diturunkan titik didihnya dengan komponen yang akan berwujud padat pada suhu tekanan kamar (Laurence dan Christoper, 1989). Keuntungan menggunakan *rotary evaporator* adalah adanya gaya sentrifugal dan gaya friksional antara dinding labu atau vial yang berotasi dengan cairan sampel akan menghasilkan pembentukan lapisan film tipis yang merupakan pelarut yang tersebar seluas area labu atau vial.

Metode pengeringan menggunakan *rotary evaporator* dilakukan untuk mendapat rendemen ekstrak. Rendemen adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Rendemen menggunakan satuan persen (%), semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak. Rendemen suatu ekstrak dipengaruhi oleh beberapa faktor salah satunya adalah metode ekstraksi yang dipakai (Wijaya, 2018).

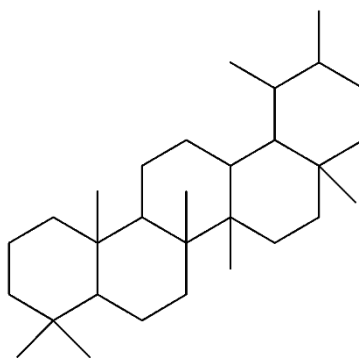
Penelitian Assagaf (2012) tentang optimasi ekstraksi oleoresin pala ekstrak dan pelarut akan di vakum untuk menguapkan pelarut sampai pelarut tidak menetes lagi pada penampung atau ditandai dengan sudah mengentalnya oleoresin. Penelitian Wahyuni (2014) tentang pengaruh cara pengeringan dengan kering angin dan cahaya matahari langsung terhadap mutu simplisia herba sambiloto. Berdasarkan hasil uji dapat diketahui bahwa hasil susut pengeringan pada simplisia yang dikeringkan dengan matahari menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan simplisia yang dikeringkan dengan cara dikering anginkan. Susut pengeringan dengan kering angin yaitu 9,4368% dan kering matahari 9,2102%. Kadar air simplisia sebaiknya lebih kecil dari 10%. Apabila kadar air lebih besar dari 10% akan menyebabkan terjadinya proses enzimatik dan kerusakan oleh mikroba (Manoi, 2006). Simplisia yang disimpan dalam waktu yang lama, enzim akan merubah kandungan kimia yang telah terbentuk menjadi produk lain yang mungkin tidak lagi memiliki efek farmakologi seperti senyawa asalnya. Hal ini tidak akan terjadi jika bahan yang telah dikeringkan mempunyai kadar air yang rendah. Beberapa enzim merusak kandungan kimia antara lain adalah hidrolase, oksidase dan polymerase (Manoi, 2006). Dan susut pengeringan pada simplisia herba

sambiloto sesuai dengan standar Farmakope Herbal Indonesia Edisi I (2008) yaitu < dari 10%.

2.6 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif

Tumbuhan umumnya mengandung golongan senyawa aktif dalam bentuk metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid dan lain-lain. Senyawa metaolit sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya mempunyai kemampuan bioaktivitas dan berfungsi sebagai pelindung tumbuhan tersebut dari gangguan hama penyakit baik untuk tumbuhan itu sendiri atau lingkungannya.

2.6.1 Triterpenoid



Gambar 2.4 Struktur Senyawa Triterpenoid (Harborne,2006)

Triterpenoid adalah senyawa metaolit sekunder turunan terpenoid yang kerangka karbonnya berasal enam satuan isoprene (2-metilbuta-1,3-diene) yaitu kerangka karbon yang dibangun oleh enam satuan C₅ dan diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik, yaitu skualena. Senyawa ini berbentuk siklik atau asiklik dan sering mrmiliki gugus alkohol, aldehida atau asam karboksilat. Senyawa

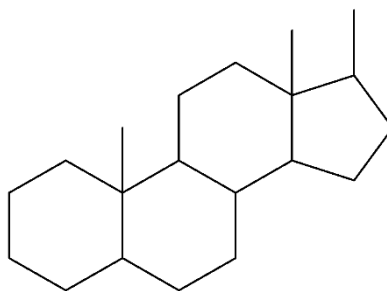
golongan triterpenoid menunjukkan aktivitas farmakologi yang signifikan, seperti antibakteri, antiinflamasi, dan antikanker. Tumbuhan mengandung senyawa triterpenoid yang memiliki nilai ekologi karena senyawa ini bekerja sebagai antifungus, insektisida, antipemangsa, antibakteri dan antivirus (Balafif,2013).

Pereaksi Lieberman-Burchard secara umum digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa triterpenoid yang akan menghasilkan warna merah atau merah keunguan. Dilakukan penambahan asan asetat anhidrat pada uji yang bertujuan untuk membentuk turunan asetil. Asam sulfat pekat ditambahkan untuk menghidrolisis air yang akan bereaksi dengan turunan asetil membentuk cincin merah keunguan sampai sampel dinyatakan positif mengandung triterpenoid (Rachmawati,2019). Mekanisme triterpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri dan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Halimah, 2019).

2.6.2 Steroid

Steroid adalah suatu golongan senyawa triterpenoid yang mengandung inti siklopentana perhidrofenantren yaitu dari 3 cincin sikloheksana dan 1 cincin siklopentana (Harborne, 1987). Steroid atau sterol adalah triterpenoid yang mempunyai dasar bentuk siklopentana perhidrofenantren yang biasanya larut dalam pelarut yang kurang polar. Semua sterol diduga hanya ada pada binatang,

namun sekarang telah diketahui bahwa sterol juga terdapat pada tumbuhan (fitosterol). Fitosterol ini berbeda secara struktural dengan sterol binatang. Perbedaannya terutama pada substitusi gugus metil dan etil (Febriany, 2004). Senyawa sterol yang lainnya terdapat pada tumbuhan tingkat rendah, tetapi juga ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi, misalnya flukosterol, yaitu steroid utama pada ganggang coklat, namun juga dapat dideteksi pada kelapa (Harborne, 1987).



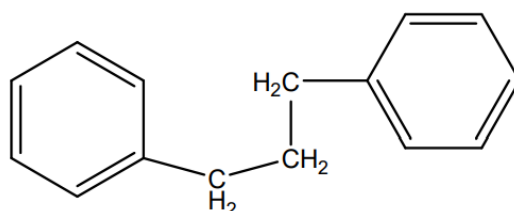
Gambar 2.5 Struktur Senyawa Steroid (Harborne, 2006)

Rachmawati (2019) dalam penelitiannya melakukan uji fitokimia ekstrak air daun kelor pada pengujian steroid menunjukkan hasil positif ditandai dengan timbulnya perubahan warna menjadi hijau biru kehitaman. Munculnya warna hijau, biru kehitaman pada uji steroid dikarenakan terjadinya reaksi Liebermann-Burchard. Pada uji yang telah dilakukan, penambahan asam asetat anhidrat bertujuan untuk membentuk turunan asetil. Penambahan asam sulfat pekat adalah untuk menghidrolisis air yang akan bereaksi dengan turunan asetil cincin merah keunguan maupun hijau sampai biru. Pada uji yang dilakukan, pewarnaan timbul dari hijau sampai biru, sehingga sampel dinyatakan positif mengandung steroid. Mekanisme kerja steroid sebagai antibakteri yaitu dengan merusak membran lipid, sehingga liposom mengalami kebocoran. Steroid juga dapat berinteraksi dengan membrane fosfolipid karena sifatnya permeable terhadap senyawa senyawa

lipofilik menyebabkan integritas membrn menurun dan morfologi membrane sel terganggu yang mengakibatkan sel mengalami lisis dan rapuh.

2.6.3 Flavonoid

Flavonoid mempunyai kerangka dasar 15 atom karbon yang terdiri dari dua cincin benzene terikat pada suatu rantai propane (C3) sehingga membentuk suatu susunan C6-C3-C6. Cincin A selalu memiliki gugus hidroksil yang terletak sehingga memberikan kemungkinan untuk terbentuknya cincin heterosiklik dalam senyawa trisiklis seperti yang ditunjukkan pada gambar dibawah ini. flavonoid dapat digolongkan sebagai fenol karena biasanya cincin A dan B mengandung gugus hidroksil. Sebagian besar senyawa flavonoid di alam ditemukan dalam bentuk glikosida, dimana unit flavonoid terikat pada suatu gula. Glikosida adalah kombinasi antara suatu gula dan suatu alkohol yang saling berikatan melalui ikatan glikosida. Flavonoid dapat direduksi dengan magnesium dan asam klorida



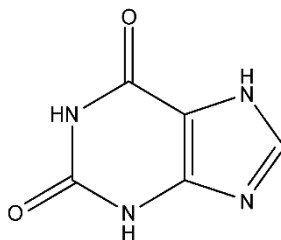
Gambar 2.6 Struktur Dasar Senyawa Flavonoid (Noer, 2016)

Pengujian pada senyawa flavonoid dinyatakan positif mengandung senyawa flavonoid apabila larutan yang terbentuk berwarna kuning. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang mudah larut dalam pelarut polar seperti air, etanol, methanol dan aseton. Flavonoid bersifat polar karena mengandung sejumlah suatu gula sehingga akan larut dalam pelarut polar. Flavonoid memiliki sifat sebagai penangkap radikal bebas, penghambat enzim hidrolisis dan oksidatif

dan bekerja sebagai antiinflamasi bersifat toksik terhadap sel kanker, menghambat pelepasan histamin, antijamur dan antibakteri (Rachmawati, 2019).

2.6.4 Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang paling banyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuh tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Semua senyawa alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan heterosiklik



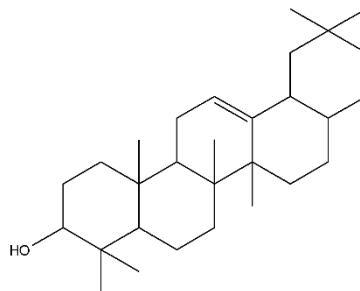
Gambar 2.7 Struktur Senyawa Alkaloid

Uji yang dilakukan untuk menunjukkan adanya senyawa alkaloid dilakukan dengan menggunakan pereaksi Mayer dan Dragendroff. Kedua pereaksi ini dinyatakan positif mengandung senyawa alkaloid ketika memberikan warna coklat dan jingga. Senyawa alkaloid ini berpotensi untuk digunakan sebagai antibakteri. Senyawa alkaloid sukar larut dalam air tetapi larut dalam kloroform, etil asetat, aseton dan alcohol. Alkaloid dalam tumbuh-tumbuhan pada umumnya berada dalam bentuk garam, sehingga mudah larut dalam pelarut organik seperti kloroform, etil asetat, aseton, benzene, alcohol, etanol dan methanol (Sultan, 1985). Mekanisme penghambatan yang dilakukan oleh senyawa alkaloid yaitu dapat mengganggu terbentuknya jembatan seberang silang komponen penyusun

peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel.

2.6.5 Saponin

Saponin berasal dari bahasa latin *sapo* yang berarti sabun, karena sifatnya menyerupai sabun. Saponin adalah senyawa aktif yang permukaannya kuat, menimbulkan busa jika dikocok dengan air pada konsentrasi yang rendah dan sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Aglikonnya disebut sapogenin, diperoleh dengan hidrolisis dalam sama atau menggunakan enzim.



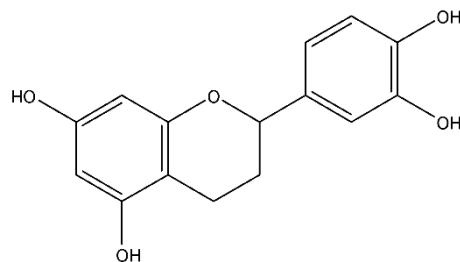
Gambar 2.8 Struktur Senyawa Saponin (Illing,2017)

Senyawa saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat dan menimbulkan busa, jika dikocok dengan air. Hal ini menunjukkan uji positif adanya senyawa saponin. Saponin bersifat polar sehingga dapat larut dalam pelarut seperti air dan saponin juga bersifat non polar karena memiliki gugus hidrofob yaitu aglikon (sapogenin). Busa yang dihasilkan pada uji saponin disebabkan karena adanya glikosida yang dapat membentuk busa dalam air dan terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya. Saponin memiliki kegunaan dalam pengobatan karena sifatnya yang mempengaruhi absorpsi zat aktif secara farmakologi. Beberapa jenis saponin bekerja sebagai antimikroba. Mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang mengganggu

permeabilitas membran sel mikroba yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida (Halimah,2019).

2.6.6.Tanin

Tanin merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang terdapat pada daun, buah yang belum matang, merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang termasuk golongan flavonoid, mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Secara kimia tanin di bagi menjadi dua golongan yaitu tanin terkondensasi atau tanin katekin dan tanin terhidrolisis atau tanin galat.



Gambar 2.9 Struktur Senyawa Tanin (Alamsjah, 2011)

Adanya senyawa tanin diandai dengan terbentuknya warna hijau kebiruan yang menandakan terbentuknya senyawa kompleks antara tanin dan Fe^{3+} yang memberi indikasi perubahan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat. Tanin dapat digunakan sebagai antibakteri dengan cara mengerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, maka sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya akan terhambat atau bahkan mati (Alamsjah, 2011).

2.7 Metode Pengujian Antibakteri

Terdapat dua cara yang umum digunakan dalam pengujian antibakteri yaitu difusi dan dilusi. Difusi adalah proses perpindahan molekul secara acak dari satu posisi ke posisi yang lainnya. Metode difusi terbagi menjadi beberapa macam yaitu ada metode lempeng bujur sangkar, metode lempeng pada cawan petri dan pencadang atau reservoir. Metode lempeng bujur sangkar dilakukan dengan menggunakan lempeng yang terbuka dengan pemasangan penyaringan udara atau Laminar air flow yang berfungsi untuk menghindari kontaminasi dari bakteri di sekitarnya terhadap inokulum dan lempeng. Udara akan disterilkan dan dialirkan secara horizontal dan vertikal. Pada lempeng bujur sangkar, ketebalan medium lebih homogen dan kondisi lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme yang digunakan pada penetapan potensi akan sama. Sehingga efek yang diamati hanya semata mata yang disebabkan oleh jumlah dosis antibiotika yang diujikan.

Kekurangan metode ini yaitu dengan penggunaan lempeng yang besar maka kemungkinan kontaminasi terhadap inokulum semakin tinggi. Metode lempeng pada cawan petri dilakukan dengan menempatkan inokulum kedalam cawan petri. Sehingga kemungkinan kontaminasinya akan lebih kecil dibandingkan dengan lempeng bujur sangkar. Metode pencadangan atau reservoir adalah pencadang pada lempeng yang digunakan adalah silinder dari kaca, logam karat, silinder kapiler, marjan tulang ikan, cetak lubang, kertas cakram dan lain lain. Pencadang bisanya memiliki ukuran diameter luas yaitu 8 mm, diameter 6 mm dan tinggi 10 mm.

Dilusi terbagi menjadi dua yaitu metode dilusi cair dan metode dilusi padat. Metode dilusi cair ini mengukur kadar hambat minimumnya dan kadar bunuh minimumnya. Caranya adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada media cair kemudian ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pembunuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM (Konsentrasi Hambat Minimum). Larutan yang digunakan sebagai KHM akan dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen mikroba. Setelah itu akan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah diinkubasi akan ditetapkan sebagai KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum). Metode dilusi padat serupa dengan metode dilusi cair namun media yang digunakan berupa media padat. Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen mikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode difusi cakram. Metode ini menggunakan kertas cakram yang berisi antimikroba yang diletakkan pada agar Mueller Hinton yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut (Pratiwi, 2008). Metode difusi adalah metode pengujian aktivitas antibakteri dengan menentukan kerentanan bakteri. Ekstrak dari sampel akan terbentuk zona bening atau daya hambat sehingga bisa dikatakan sebagai antibakteri. Metode pengujian aktivitas antibakteri ada kontrol positif yang digunakan sebagai tolak ukur pada penentuan aktifnya ekstrak sebagai zat antibakteri. (Febrina, 2017).

Prinsip kerja difusi cakram yaitu menginokulasi agar dengan biakan dan membiarkan zat yang memiliki antibakteri berdifusi ke media agar. Cakram yang

telah mengandung zat antibakteri diletakkan di permukaan plat yang mengandung organisme yang diuji. Konsentrasinya akan menurun seiring dengan luas bidang difusinya. Difusi ini akan berlangsung sampai pada jarak tertentu pada kertas cakram sampai titik zat antibakteri tidak menghambat pertumbuhan bakteri lagi. Sehingga zat antibakteri akan ditunjukkan dengan efektivitas pada zona hambat. Zona hambat sendiri ditunjukkan dengan tampah area jernih atau bersih di sekitar cakram tempat aktivitas antibakteri terdifusi. Diameter zona hambat dapat diukur dengan mistar atau penggaris (Harmita, 2008).

2.8 Uji Toksisitas dengan metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test)

Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan salah satu metode yang menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji. Metode ini merupakan metode yang banyak digunakan sebagai pencarian senyawa antikanker baru (Surya, 2018). Metode BSLT juga digunakan untuk mengetahui aktivitas toksik dari ekstrak atau senyawa bahan alam. Keuntungan dari metode BSLT yaitu mudah dilakukan, tidak membutuhkan spesialisasi tertentu dalam prosesnya, relatif murah, dan mempunyai hasil dengan tingkat kepercayaan tinggi sekitar 95% untuk mengamati aktivitas toksik dari suatu senyawa di dalam ekstrak bahan alam (Setyowati dan Cahyanto, 2016). Selain itu, mudah diperbanyak, dan dapat menunjukkan adanya korelasi terhadap suatu spesifik antikanker (Surya, 2018).

Klasifikasi larva udang *Artemia salina* Leach (Wibowo, 2013)

Filum	: Arthropoda
Class	: Crustacea
Subclass	: Branchiopoda
Bangsa	: Anostraca

Famili : Artemiidae
 Suku : Artemia
 Jenis : *Artemia salina* Leach

Morfologi *Artemia salina* Leach. *Artemia* merupakan salah satu jenis pakan alami yang hidup di laut. Telur *artemia* yang baru menetas merupakan pakan awal bagi larva patin sampai umur 7 hari yang memiliki kandungan protein cukup tinggi yaitu sekitar 55%. *Artemia* merupakan golongan zooplankton yang hidup sebagai planktonic yang melayang didalam air. *Artemia* merupakan jenis udang udangan yang mempunyai ukuran relatif kecil. Dengan ukuran tersebut *Artemia* mampu beradaptasi pada kisaran salinitas yang luas dengan sistem osmoregulasi (Kholish, 2010)

Artemia salina Leach memiliki 3 tingkat hidup yaitu bentuk telur, nauplius atau larva dn *artemia* dewasa. Telur *Artemia salina* Leach pada saat air laut atau danau menguap akan naik ke permukaan yang dibawa oleh angin sehingga hanyut ke darat. Telur *Artemia* bentuknya seperti partikel partikel kecil berwarna coklat dan memiliki diameter sekitar 0,2-0,3 mm. Telur *Artemia* yang terhidrasi dan dalam keadaan dispauze akan memiliki ketahanan dan kestabilan dalam penyimpanan yang lama. Jika telur telur yang embrionya dalam keadaan dispauze direndam dalam larutan bergaram atau air laut, telur akan menyerap air laut dan menggembung. Proses penyerapan ini berlangsung secara hiperosmotik yaitu adanya tekanan osmosis didalam telur yang lebih tinggi daripada luarnya (Mudjiman, 1988)

Setelah telur menggembung, metabolisme akan berlangsung terus. Untuk mencapai tingkatan ini dibutuhkan waktu sekitar 15 jam. Terjadinya pemecahan cangkang telur yang keras akan dibantu dengan enzim penetasan pada pH lebih dari 8. Setelah perendaman 17 jam, embrio akan keluar dari cangkang yang masih

dibungkus oleh selaput penetasan. Artemia akan dibungkus oleh selaput penetasan hingga akhirnya keluar dan menjadi makhluk hidup ketika waktu 19 jam sampai kira kira 24-36 jam. Tahap selanjutnya adalah yaitu metamorphosis. Pada tingkatan instar I, kandungan energi masih cukup tinggi. Setelah 24 jam kemudian Artemia sudah berubah menjadi instar II dan pada proses ini ia akan mempunyai mulut, saluran pencernaan dan dubur, sehingga Artemia sudah mulai mencari makananya. Artemia ini akan terus tumbuh sampai pada instar XV kemudian kan berubah menjadi artemia dewasa. Proses menuju artemia dewasa biasanya membutuhkan waktu 1-3 minggu (Mudjiman, 1988).

Artemia memiliki tubuh yang terbagi menjadi 3 bagian yaitu bagian kepala, dada dan perut. Bagian kepala terdapat 2 tungkai mata, 2 antena dan 2 antenula. Bagian dada terbagi atas 11 segmen yang masing masing memiliki tungkai kaki renang. Bagian perut terbagi atas 8 segmen. Reproduksi Artemia salina dapat bertelur atau melahirkan anak. Pergantian reproduksi ini dimungkinkan oleh jumlah klorofil dalam makananya dan faktor oksigen dalam lingkungannya. Konsentrasi oksigen yang rendah dalam klorofil yang tinggi dalam makanan menyebabkan produksi telur. Sedangkan konsentrasi oksigen yang tinggi dalam klorofil yang rendah akan menyebabkan reproduksi dengan cara melahirkan (Mudjiman, 1988). Kandungan kimia yang terdapat dalam tubuh Artemia salina adalah protein dan asam lemak yang tinggi. Nilai nutrisi Artemia salina adalah kandungan protein meningkat dari rata rata 47% pada nauplius menjadi 60% pada artemia dewasa yang telah dikeringkan (Wibowo, 2013).

Lingkungan hidup Artemia salina ada di planktonic diperairan dengan kadar garam tinggi, suhu berkisar 25°C – 30°C, oksigen terlarut sekitar 3 mg/L

dan PH antara 7,3-8,4. Telur larva yang sudah berbentuk bulat akan menetas kurang lebih 48 jam akan menetas dan berenang disebut napuli. Tahap napuli merupakan tahap kedua dari proses kehidupan dari *Artemia salina* yang hanya memiliki hanya memiliki 1 mata (fotoreseptor). Bentuk napuli yang ada di literatur identik dengan napuli yang digunakan untuk uji. Napuli ini akan tumbuh dan mengembangkan dua mata, tapi mata awal tetap, sehingga tiga mata. Napuli yang phototactic, sementara orang dewasa tidak. Mereka berenang melalui kolom air (fototaksis) menggunakan antena. Rahang yang digunakan untuk menyaring air dan fitoplankton (Mioara, 2011).

Penelitian Muaja (2013) yaitu uji toksisitas ekstrak daun soyogik dengan menggunakan metode BSLT, menghasilkan LC50 konsentrasi 35,4 ppm. Menurut Meyer et al. (1982) suatu ekstrak menunjukkan ketoksikan dalam uji toksisitas jika ekstrak dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi < 1000 ppm. Berdasarkan dari pernyataan tersebut maka ekstrak daun soyogik bersifat toksik.

Artemia telah dipakai dalam bermacam – macam uji hayati seperti uji pestisida, polutan, mikotoksin, anestetik, komponen seperti morfin, kekarsinogenikan dan ketoksikan dalam air laut. Uji dengan organisme ini sesuai untuk aktivitas farmakologi dalam ekstrak tanaman yang bersifat toksik. Peneliti banyak menggunakan *artemia salina* karena memiliki beberapa keuntungan diantaranya cepat, murah, mudah dan sederhana. Penetasan telur *artemia salina* Leach yang baik perlu memperhatikan beberapa faktor diantaranya : hidrasi dari kista kista, aerasi, penyiangan, suhu, derajat keasaman (pH) dan kepadatan telur dalam media penetasan (Wibowo, 2013).

Mekanisme reaksi senyawa terhadap larva udang *Artemia Salina* Leach adalah senyawa senyawa tersebut akan menyebabkan *stomach poisoning* atau racun perut, sehingga mengganggu sistem pencernaan *Artemia salina* Leach. Senyawa tersebut juga akan menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva sehingga larva akan gagal mendapatkan stimulus rasa yang menyebabkan tidak mengenali makanannya. *Larva Artemia salina* leach akan mati karena kelaparan. (Cahyadi, 2009).

BAB III

METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* serta Uji Toksisitas Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Hasil Sonikasi Dengan Variasi Preparasi Sampel“ ini dilaksanakan pada bulan Agustus – November 2020 di Laboratorium Kimia Fisik dan Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat alat yang digunakan pada penelitian ini adalah blender, Erlenmeyer 250 ml, gelas beker 500 ml, erlenmeyer 500 ml, corong, corong buchner, erlenmeyer vakum, tabung reaksi, pipet tetes, penangas air, jarum ose, *stirer*, autoclave, ayakan mesh, kaca arloji, timbangan analitik, labu ekstraksi, batang pengaduk, cawan petri, pinset, inkubator, blue tip, yellow tip, *laminar air flow*, mikropipet 100-1000 µl, bunsen, labu ukur 50 ml, bola hisap, pipet ukur 1 ml, pipet tetes, botol vial 10 ml, botol UC, *rotary evaporator* dan alat ultrasonik.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu daun kelor, aquades, Nutrient Agar (NA), Nutrient Broth (NB), doxycycline, DMSO, alkohol 70%, bakteri uji (*pseudomonas aeruginosa*), kertas saring, kertas whatman no 1, kertas label, wrap dan alumunium foil.

3.3 Tahapan Penelitian

1. Preparasi sampel
2. Analisa kadar air
3. Pembuatan ekstrak daun kelor
 - a. Metode maserasi
 - b. Metode sonikasi
4. Uji fitokimia
5. Analisa aktivitas antibakteri
 - a. Sterilisasi alat
 - b. Pembuatan media miring
 - c. Inokulasi bakteri
 - d. Pembuatan larutan suspensi bakteri uji
 - e. Pembuatan larutan kontrol
 - f. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor
 - g. Pengukuran Zona Hambat Ekstrak Daun Kelor
6. Uji Toksisitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor
 - a. Penetasan telur larva udang *Artemia salina* Leach
 - b. Uji toksisitas ekstrak daun kelor
7. Analisa Data
 - a. Analisa data hasil uji antibakteri
 - b. Analisa data hasil uji toksisitas

3.4 Langkah Kerja

3.4.1 Preparasi Sampel

Daun kelor (*Moringa oleifera*) segar dikumpulkan lalu dibersihkan dari kotoran, kemudian dicuci dengan air sampai bersih. Setelah itu daun kelor dijemur dengan variasi kering angin selama 4 minggu dan kering jemur selama 3-4 hari sampai daun benar benar kering. Setelah kering daun lalu kedua variasi di haluskan dengan blender hingga menjadi serbuk. Kemudian diayak dengan ayakan mesh hingga didapat simplisia yang halus. Kemudian simplisia diletakkan kedalam wadah yang tertutup (Rizkayanti,2017).

3.4.2 Analisis Kadar Air

Cawan petri dimasukkan kedalam oven dengan suhu 105°C selama 24 jam setelah itu dimasukkan kedalam desikator selama 15 menit kemudian ditimbang. Daun kelor yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 5 g dan dimasukkan dalam cawan yang telah diketahui berat konstannya, selanjutnya dikeringkan di dalam oven pada suhu 100-105°C selama 30 menit, kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Perlakuan ini diulangi sampai tercapai berat konstan. (Winarmo,2004)

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{\text{Berat Awal}-\text{Berat Akhir}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\%$$

3.4.3 Pembuatan Ekstrak Daun Kelor

3.4.3.1 Metode Maserasi

Sebanyak 25 gram serbuk daun kelor dimasukkan kedalam gelas beker lalu dimasukkan aquades sebanyak 250 ml kedalamnya. Penggunaan variasi berat per

pelarut 1:10 karena pada penelitian Sa'adah (2015) dengan rasio 1:10 selama 24 jam pada pelarut air mendapat rendemen terbaik. Kemudian dilakukan ekstraksi maserasi selama 24 jam dengan di shaker. Kemudian disaring menggunakan kertas Whatman dan hasil filtrat dari maserasi di *rotary evaporator* dengan suhu 60°C, tekanan 800 atm dan kecepatan 65 rpm hingga dihasilkan ekstrak kental (Wulandari,2017).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat Akhir Sampel}}{\text{Berat Awal Sampel}} \times 100\%$$

3.4.3.2 Metode Sonikasi

Sebanyak 25 gram serbuk daun kelor dimasukkan kedalam gelas, lalu dimasukkan aquades sebanyak 250 ml kedalamnya. Penggunaan variasi berat per pelarut 1:10 karena pada penelitian Ardianti (2014) sonikasi dengan menggunakan rasio berat per pelarut 1:10 dengan waktu 20 menit memiliki hasil rendemen terbaik. Kemudian diekstrak dengan alat sonikasi dengan frekuensi 42 kHz selama 20 menit. Ekstrak sonikasi daun kelor kemudian disaring menggunakan Whatman dan hasil filtrat dari sonikasi di *rotary evaporator* dengan suhu 60°C, tekanan 800 atm dan kecepatan 65 rpm sehingga diperoleh ekstrak kental (Susanty, 2019).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat Akhir Sampel}}{\text{Berat Awal Sampel}} \times 100\%$$

3.4.4 Uji Fitokimia Senyawa Aktif Daun Kelor

Setelah diperoleh ekstrak daun kelor, kemudian dilakukan uji fitokimia berupa uji alkaloid, uji flavonoid, uji tanin, uji saponin, uji steroid dan triterpenoid.

3.4.4.1 Uji Alkaloid

Ekstrak daun kelor yang akan diperiksa dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,5 mL HCl 2%. Setelah itu dibagi dalam 2 tabung (Anwar et al., 2014):

- a. Tabung 1: ditambahkan dengan 0,5 mL reagen Dragendorff. Jika terbentuk endapan menunjukkan adanya alkaloid.
- b. Tabung 2: ditambahkan dengan 0,5 mL reagen meyer. Jika terbentuk endapan kekuning-kuningan menunjukkan adanya alkaloid.

3.4.4.2 Uji Flavonoid

Ekstrak daun kelor yang akan diperiksa dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 1-2 mL metanol panas 50%, ditambahkan logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Keberadaan flavonoid akan ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna filtrat menjadi jingga atau merah (Anwar *et al.*, 2014).

3.4.4.3 Uji Tanin

Ekstrak daun kelor yang akan diperiksa dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dan ditambahkan 1 – 2 tetes pereaksi besi (III) klorida 1%. Keberadaan tanin akan ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna filtrat menjadi hitam (Anwar *et al.*, 2014).

3.4.4.4 Uji Saponin

Ekstrak daun kelor yang akan diperiksa dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan air panas, didinginkan, kemudian dikocok selama 10

detik. Setelah itu diamati perubahan yang terjadi. Kemudian ditambahkan kembali 1 tetes HCl 2N dan diamati kembali perubahan yang terjadi. Hasil positif apabila muncul busa stabil selama 10 menit (Rachmawati, 2019).

3.4.4.5 Uji Steroid dan Triterpenoid

Ekstrak daun kelor yang akan diperiksa dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 – 3 tetes asam asetat anhidrat, lalu diaduk secara perlahan beberapa saat sampai kering, kemudian ditambahkan 1 – 2 tetes asam sulfat pekat dan diamati pewarnaan yang timbul. Pewarnaan merah atau merah ungu memberikan indikasi triterpenoid sementara pewarnaan hijau - biru untuk steroid (Anwar, 2014).

3.4.5 Analisis Aktivitas Antibakteri

3.4.5.1 Sterilisasi Alat

Alat alat yang akan digunakan untuk penelitian sebelumnya disterilkan dengan cara dibungkus dengan kertas kemudian dimasukkan ke dalam autoclave selama 20 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 15 atm. Bahan untuk membuat media juga dilakukan sterilisasi. (Lay dan Hastowo, 1992).

3.4.5.2 Pembuatan Media Agar Miring

Pembuatan media agar miring dilakukan dengan melarutkan 50 gram NA dengan 500 ml aquades ke dalam erlenmeyer dan ditutup dengan aluminium foil. Dihomogenkan dengan stirrer diatas penangas air hingga mendidih. Disterilkan ke dalam autoclave suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Didinginkan

hingga suhu menurun. Dituang kedalam beberapa tabung reaksi pada rak. Kemudian dimiringkan dan diamkan hingga mengeras (Lay, 1994).

3.4.5.3 Inokulasi Bakteri

Disterilkan jarum ose diatas api. Lalu diambil 1 ose bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dari isolat murni. Kemudian ditanam bakteri dengan cara digoreskan pada media agar miring untuk diremajakan. Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Penggunaan suhu 37°C adalah karena suhu tersebut merupakan suhu optimum untuk bakteri dapat tumbuh. Penggunaan waktu inkubasi 24 jam karena pada fase itu bakteri sedang dalam fase log atau eksponensial yang merupakan fase dimana bakteri akan tumbuh dengan cepat. Perlakuan ini semua dilakukan di *laminar air flow* dalam keadaan steril (Siregar, 2009).

3.4.5.4 Pembuatan Larutan Suspensi Bakteri Uji

Disterilkan jarum ose diatas api. Diambil 1 ose bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang telah diinokulasi. Disuspensikan ke dalam botol yang berisi 10 ml larutan media NB. Dishaker dengan kecepatan 100 rpm selama 18 jam. Kemudian diukur nilai OD dari blanko dan larutan ujinya menggunakan spektrofotometer uv-vis dengan panjang gelombang 600 nm. Hingga didapat kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan media NB yaitu sebesar 0,5. Nilai OD awal dari bakteri biasanya berkisar 0,08-0,1. Pemeriksaan selanjutnya nilai OD berkisar 0,05-0,5 (Victor, 1980).

3.4.5.5 Pembuatan Larutan Kontrol

Larutan kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO dan larutan kontrol positif yang digunakan adalah 1 tablet obat doxycycline digerus, lalu ditimbang 1 gram dan dilarutkan dalam 1 ml aquades (Dima,2016).

3.4.5.6 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor

Uji aktivitas antibakteri ini dilakukan dengan 5 kali ulangan pada masing masing ekstrak. Direndam kertas cakram pada larutan kontrol dan larutan uji pada konsentrasi 25, 50, 75, 100 dan 125 ppm selama 60 menit. Kemudian dituang media suspensi bakteri ke dalam 5 cawan petri. Kemudian dituang media NA ke dalam cawan petri yang sudah ada suspensi bakteri dan digerakkan membentuk angka 8 agar media dan suspensi bakteri tercampur. Lalu tunggu hingga memadat. Kemudian diletakkan kertas cakram yang sudah direndam dengan larutan kontrol dan larutan sampel ke dalam media dengan jarak 3 cm dan jarak tepi 2 cm untuk tepi media. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali pada petri yang berbeda. Perlakuan ini semua dilakukan di laminar air flow dalam keadaan steril.

3.4.5.7 Pengukuran Zona Hambat Ekstrak Daun Kelor

Setelah 24 jam, diamati zona hambat bakteri yaitu diameter zona bening disekitar sumuran. Lalu dilakukan pengukuran diameter daerah hambat yang ditandai dengan adanya daerah bening di sekitar kertas cakram dalam satuan milimeter (mm) dengan mistar atau jangka sorong. Dihitung luas zona hambat dengan cara (Davis and Stout 1971).

$$L_z = L_{av} - L_d$$

Keterangan :

L_z = Diameter zona hambat (mm)

L_{av} = Diameter zona hambat dengan kertas cakram (mm)

L_d = Diameter kertas cakram (mm)

3.4.6 Uji Toksisitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor

3.4.6.1 Penetasan Telur Larva Udang *Artemia salina* Leach

Sebanyak 250 mL air laut dimasukkan ke dalam bejana penetasan, kemudian dimasukkan telur *Artemia salina* Leach sebanyak 2,5 mg. Selanjutnya diaerasi dengan cara memberikan aerator ke dalam bejana penetasan. Pada bagian telur ditutup dengan alumunium foil sehingga ruangan menjadi gelap dan lampu dinyalakan selama 48 jam untuk menetas telur. Larva yang menetas akan menuju daerah yang lebih terang melalui sekat. Larva yang sehat dan siap dijadikan hewan uji setelah berumur 48 jam. Larva udang *Artemia salina* Leach yang akan diuji diambil dengan menggunakan pipet (Anwar, dkk., 2014).

3.4.6.2 Uji Toksisitas Ekstrak Daun Kelor

Perlakuan uji toksisitas dilakukan sebanyak 5 kali ulangan ekstrak hasil uji antibakteri terbaik. Ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan menggunakan air laut sebanyak 10 mL (membuat larutan stok 1000 ppm). Larutan yang diperoleh selanjutnya dipipet masing-masing sebanyak 250 μ L, 500 μ L, 1000 μ L, 2000 μ L dan 4000 μ L, kemudian dimasukkan ke dalam botol vial 10 mL. Selanjutnya ditambah 5 mL air laut, satu tetes larutan ragi roti, ditambahkan

air laut sampai mendekati tanda batas kemudian dikocok sampai ekstrak dapat larut dalam air laut dan dihomogenkan kemudian dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia salina* Leach dan ditambah air laut sampai tanda batas, sehingga konsentrasi masing-masing larutan menjadi 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200, ppm 400 ppm dan 0 ppm (sebagai kontrol). Pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva udang. Kriteria standar untuk mengukur kematian larva udang yaitu apabila larva udang tidak menunjukkan pergerakan selama 10 detik pengamatan. Selanjutnya dihitung survival rate dari larva udang pada masing masing konsentrasi dan ulangnya dalam vial menggunakan rumus sebagai berikut: (Anwar,dkk, 2014)

$$\% \text{ kematian larva udang } Artemia \text{ salina} = \frac{T-K}{10} \times 100\%$$

Keterangan:

T = jumlah larva uji yang mati

K = jumlah larva kontrol yang mati

3.5.7 Analisa Data

3.5.7.1 Analisa Data Uji Aktivitas Antibakteri

Data dari aktivitas antibakteri didapat dari analisis ragam melalui uji ANOVA dua arah untuk menguji adanya pengaruh antar perlakuan variasi konsentrasi ekstrak daun kelor dan variasi preparasi sampel terhadap zona hambat yang dihasilkan. Apabila ada pengaruh maka akan dilanjutkan dengan uji BNT dengan tingkat signifikan 5% untuk mengetahui perlakuan yang berpengaruh atau perbedaan nyata dengan perlakuan lain.

3.5.7.2 Analisa Data Uji Toksisitas Ekstrak Terbaik dari Uji Antibakteri

Data dari toksisitas yang didapat adalah nilai hasil uji toksisitas dari kematian larva udang dengan variasi konsentrasi ekstrak daun kelor kemudian dihitung % mortalitas dan mortalitasnya akan dibuat tabel pada lampiran ke 5. Selanjutnya akan dianalisis menggunakan analisis data probit dengan program MINITAB untuk mengetahui nilai LC_{50} yang dihasilkan dari ekstrak dengan variasi konsentrasi

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi sampel

Sampel daun kelor pada penelitian ini didapat dari Kediri. Preparasi sampel dilakukan dengan mengumpulkan daun kelor lalu mencuci bersih daun kelor dengan air mengalir sampai bersih untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada daun kelor. Setelah itu dilakukan pengeringan dengan beberapa variasi yaitu pengeringan angin dan pengeringan jemur. Pengeringan angin dilakukan tanpa sinar matahari selama 2 minggu pada suhu kira-kira 25°C sedangkan pengeringan jemur dilakukan dengan menggunakan sinar matahari selama 2-3 hari dengan suhu kira-kira 37°C. Pengeringan dilakukan untuk menghilangkan kadar air pada daun agar daun awet dan tidak mudah basi ketika disimpan dalam jangka lama. Kadar air juga akan mempengaruhi kualitas dan daya simpan dari suatu bahan tersebut (Prasetyo, 2019)

Daun yang sudah dikeringkan diserbukkan dengan blender kemudian diayak dengan ayakan mesh hingga didapat serbuk halus. Dilakukan penghalusan untuk memperluas permukaan sehingga mempermudah masuknya cairan penyari (Syarifuddin et al. 2020). Dilakukan pengayakan untuk mendapatkan serbuk halus yang terpisah dari pengotor yang ada pada daun kelor. Setelah diayak daun diletakkan pada wadah tertutup. Serbuk daun kelor ini nantinya akan digunakan sebagai ekstrak yang akan diujikan. Pengeringan dengan sinar matahari dilakukan untuk mempercepat daun menjadi kering. Pengeringan dengan diangin anginkan dilakukan untuk menghindari kerusakan atau hilangnya senyawa aktif dalam daun *Moringa oleifera*.

Tabel 4.1 Berat daun kelor sebelum dan sesudah dikeringkan

Sampel	Berat Awal (g)	Berat Akhir (g)
Pengeringan Matahari	2000	745
Pengeringan Angin	2000	600

Tabel 4.1 menunjukkan berat sebelum dilakukan pengeringan pada daun kelor yaitu 2000 g. Berat setelah dilakukan pengeringan pada pengeringan matahari adalah 745 g dan pada pengeringan angin 600 g. sekitar 30% serbuk kering dari sampel basah pengeringan angin dan pada pengeringan jemur didapat sekitar 37,25% serbuk kering dari sampel basah. Penelitian Akbar (2019) didapat persentase daun kelor setelah dilakukan pengeringan sebesar 9,5% sampai 25,5% dengan lama pengeringan 2-3 hari pada suhu yang dipertahankan sebesar 30-35 °C. penelitian (Santoso 2020) tentang hasil panen pertama biomassa daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) setelah pangkas total pada tanaman umur tiga tahun persentase bobot daun kelor setelah dikeringkan yaitu sekitar 28% sampai 31%.

4.2 Analisis kadar air

Analisis kadar air dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kadar air dari sampel kering daun *Moringa oleifera*. Kandungan air di dalam sampel memiliki pengaruh besar terhadap proses ekstraksi. Semakin besar kandungan air pada sampel maka metabolit sekunder yang ada di dalam sampel juga akan lebih sulit terekstrak oleh pelarut. Menurut (Prasetyo, Isdiana, and Sujadi 2019) pengeringan yang tepat akan menghasilkan mutu simplisia yang tahan lama dalam proses penyimpanan dan tidak akan mengubah kandungan senyawa aktif yang ada pada serbuk. Sehingga Analisa kadar air penting dilakukan untuk menjaga kualitas serbuk. Hasil analisa kadar air dapat dilihat pada tabel 4.2 kadar air serbuk hasil

kering angin pada daun kelor yaitu 9,79% dan hasil serbuk kering jamur yaitu 8,22% data tersebut menunjukkan bahwa kadar air dari serbuk daun kelor bagus karena dibawah 10%. Penelitian Kurniawati (2018) tentang karakteristik tepung daun kelor dengan metode pengeringan sinar matahari dengan jangka waktu 1-2 hari menghasilkan kadar air sebesar 6,64%. Menurut Rachmawati (2019) penelitian tentang karakterisasi ekstrak air daun kelor secara kimia dan mikrobiologi kadar air daun kelor sebesar 7,5%.

Tabel 4.2 Kadar air daun kelor

Sampel	Kadar Air
Pengeringan Matahari	8,22%
Pengeringan Angin	9,79%

Hasil penelitian pada sampel kering angin dan kering jamur cukup berbeda dengan penelitian. Kadar air yang diperoleh pada simplisia dan ekstrak masing masing sesuai standar mutu yaitu $\leq 10\%$. Standar Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.661/Menkes/SK/VII/1994 standar maksimum kadar air simplisia adalah 10% untuk dijadikan sebagai obat. Ekstrak kental memiliki kadar air antara 5-30%. Kadar air yang terlalu tinggi akan menyebabkan tumbuhnya mikroba dan menurunkan stabilitas ekstrak. (Utami, 2020.). Perbedaan kadar air pada daun kelor bisa disebabkan oleh berbagai macam faktor diantaranya perbedaan varietas daun kelor, kadar air awal pada daun kelor dan metode pengeringan seperti lama waktu, suhu yang digunakan. (Rani, 2013). Penelitian Wahyuni (2014) tentang perbedaan metode pengering akan mempengaruhi hasil ekstrak yang dihasilkan.

4.3 Pembuatan Ekstrak Daun Kelor

Pembuatan ekstrak daun kelor dengan metode maserasi dilakukan menggunakan 2 cara yaitu sonikasi dan maserasi. Pelarut yang digunakan adalah pelarut polar yaitu air. Metode maserasi digunakan karena sederhana prosesnya mudah dan tidak membutuhkan suhu tinggi pada saat melakukan ekstraksi, sehingga tidak dikhawatirkan akan merusak senyawa aktif pada daun *Moringa oleifera*. Meskipun mudah dan sederhana metode maserasi memiliki kelemahan yaitu membutuhkan waktu yang lama dalam proses ekstraksi, sehingga dianggap tidak efisiensi waktu. Metode sonikasi digunakan karena sangat efisien dan tidak membutuhkan waktu yang lama untuk mendapatkan zat aktif yang dibutuhkan. Setelah dilakukan proses ekstraksi, ekstrak akan disaring dengan kertas whatman dan filtrat diuapkan dengan *rotary evaporator*. Proses penguapan dengan *rotary evaporator* dilakukan untuk memisahkan pelarut dan ekstrak dibawah titik didih pelarut sehingga tidak akan merusak ekstrak. Proses penguapan dihentikan ketika pelarut sudah tidak menetes lagi pada labu tempat pelarut dan ekstrak menjadi pekat. Dilakukan proses ekstraksi dengan rotary evaporator untuk menghilangkan pelarut dan mendapat ekstrak. Proses pengeringan dimaksud untuk mengurangi kadar air yang terdapat pada sampel, sehingga dapat mencegah pembusukan oleh bakteri. Proses pengeringan juga dilakukan untuk memperkeci ukuran sampel yang berfungsi memperluas permukaan sehingga dapat mempercepat penetrasi pelarut selain itu pengeringa juga dapat mengaktifkan senyawa yang berperan sebagai antioksidan, antibakteri dsb (Zullaikah,2019). Proses ekstraksi dilakukan bertujuan untuk mengambil senyawa kimia yang terkandung dalam sampel. Prinsip ekstraksi didasarkan pada perpindahan masa komponen zat yang terlarut

kedalam pelarut sehingga terjadi perpindahan pada lapisan dantar muka dan berdifusi masuk kedalam pelarut. Pelarut yang digunakan adalah pelarut polar yaitu aquades (Pradana,2019).Hasil rendemen sonikasi dan maserasi ekstrak air kering angin dan kering jemur dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Rendemen ekstrak air daun kelor

Variasi Ekstraksi	Rendemen (%)
Sonikasi Kering Jemur	40,48
Sonikasi Kering Angin	30,36
Maserasi Kering Jemur	17,83
Maserasi Kering Angin	14,75

Hasil rendemen yang diperoleh pada daun kelor dapat dilihat pada tabel 4.3 pada ekstraksi sonikasi sampel *Moringa oleifera* adalah 40,48% untuk sampel kering jemur dan 30,36% untuk sampel kering angin. Sedangkan hasil rendemen yang diperoleh pada ekstraksi maserasi sampel *Moringa oleifera* adalah 17,83% untuk sampel kering jemur dan 14,75% untuk sampel kering angin. Menurut (Rachmawati,2019) tentang karakterisasi ekstrak air daun kelor menghasilkan rendemen 10,31%. Penelitian yang dilakukan oleh (Sari et al., 2020) tentang teknologi pengolahan tanaman kelor yang dilakukan dengan metode maserasi dan sonikasi, dengan pelarut air mendapat rendemen pada metode maserasi 43,00%. Sedangkan pada metode sonikasi mendapat rendemen 50,00%. Sehingga hasil rendemen pada pelarut air lebih efisien menggunakan metode sonikasi.

Ekstraksi sonikasi dilakukan dengan waktu yang relatif cepat daripada ekstraksi maserasi tanpa mengurangi jumlah rendemen. Hal ini dikarenakan adanya efek gelombang ultrasonik yang membentuk *local high temperature* dan gerakan mekanik antarmuka zat padat dan zat cair, sehingga akan mempercepat laju perpindahan massa. Penggunaan gelombang ultrasonik pada proses ekstraksi

akan menghasilkan getaran ultrasonik, dimana akan mempermudah memecahkan dinding sel sehingga kandungan didalamnya dapat keluar lebih cepat (Sari, 2014). Sehingga rendemen hasil proses ekstraksi sonikasi memiliki nilai rendemen yang lebih tinggi daripada ekstraksi maserasi. Hasil rendemen akan berpengaruh terhadap hasil uji fitokimia, uji aktivitas antibakteri dan uji toksisitas. Semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan maka semakin banyak ekstrak yang didapatkan (Wijaya, 2018).

4.4 Uji Fitokimia

Uji fitokimia pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui secara kualitatif senyawa aktif metabolit sekunder apa saja yang ada di sampel *Moringa oleifera* dengan metode sonikasi dan metode maserasi. Hasil uji fitokimia ekstrak daun kelor ditunjukkan pada tabel 4.4. Berdasarkan tabel tersebut pada ekstraksi sonikasi kering angin senyawa alkaloid dengan reagen dragendroff, flavonoid, saponin dan triterpenoid mendapat hasil (+) yang artinya senyawa tersebut ada dalam ekstrak sonikasi kering angin yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna, sedangkan pada alkaloid reagen mayer, tanin dan steroid menunjukkan hasil (-) yang artinya senyawa tersebut tidak terkandung dalam ekstrak sonikasi kering angin. Pada ekstraksi sonikasi kering jemur senyawa alkaloid reagen dragendrof dan reagen mayer, flavonoid, saponin dan triterpenoid mendapatkan hasil (+), sedangkan pada senyawa steroid dan tanin menunjukkan hasil (-).

Uji fitokimia pada ekstraksi maserasi kering angin senyawa alkaloid reagen dragendrof, flavonoid, saponin dan triterpenoid mendapatkan hasil (+) dan pada senyawa alkaloid reagen mayer, tanin dan steroid mendapat hasil (-). Uji

fitokimia hasil ekstraksi maserasi kering jamur senyawa alkaloid reagen dragendrof dan reagen mayer, flavonoid, saponin dan triterpenoid mendapatkan hasil (+) sedangkan senyawa steroid dan tanin menunjukkan hasil (-). Menurut literatur (Amabye, 2016) uji fitokimia pada daun kelor ekstrak air senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid dan tanin menunjukkan hasil (+) yang artinya senyawa tersebut terkandung didalam ekstrak air daun kelor.

Penelitian (Pradana, 2019) uji fitokimia pada daun kelor ekstrak air senyawa alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, steroid dan glikosida menunjukan hasil (+). Penelitian (Anwar, 2014) pada uji fitokimia menunjukkan hasil (+) pada senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan triterpenoid. Sedangkan pada senyawa saponin dan steroid menunjukkan hasil (-) atau artinya tidak terbentuk. Penelitian (Abubakar, 2016) tentang uji fitokimia dan uji antibakteri daun kelor dengan pelarut air menunjukkan hasil uji fitokimia positif pada senyawa alkaloid, tanin dan flavonoid. Sedangkan pada senyawa saponin dan steroid menunjukkan hasil yang negatif. Menurut (Halimah, 2019) Turunnya kadar tanin pada buah lindur akibat proses perendaman selama 24 jam. Tanin sebagai polifenol larut dalam air dan basa, sehingga akan mengalami penurunan saat perendaman yang diakibatkan oleh banyaknya senyawa polifenol pada tanin yang terikat pada pelarut air. Hilangnya senyawa aktif steroid pada daun sirsak juga akibat dari perendaman senyawa 24 jam. Perendaman akan menyebabkan peristiwa plasmolisis dan pemecahan dinding sel, sehingga senyawa steroid yang terdapat pada dinding sel juga akan ikut terpecah. Hasil pengujian fitokimia ekstrak air daun kelor dapat dilihat pada tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil uji fitokimia daun kelor

Jenis Uji		Variasi Pengeringan											
		Sonikasi Kering Angin			Sonikasi Kering Jemur			Maserasi Kering Angin			Maserasi Kering Jemur		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Alkaloid	Dragendrof	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Mayer	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+
Flavonoid		+	+	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+
Tanin		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saponin		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Steroid		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Triterpenoid		+	++	++	+	++	-	++	++	++	+	+	++

Keterangan : Tanda ++ : terkandung senyawa lebih/warna pekat
 Tanda + : terkandung senyawa/warna muda
 Tanda - : tidak terkandung senyawa/ tidak terbentuk warna

Identifikasi senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan jingga pada reagen Dragendrof dan endapan putih kekuningan pada reagen Mayer. Senyawa tanin ditandai dengan terbentuknya warna hijau kecoklatan menjadi biru kehitaman. Senyawa steroid ditandai dengan terbentuknya warna hijau kebiruan. Senyawa triterpenoid ditandai dengan terbentuknya cincin kecoklatan pada permukaan larutan. Senyawa flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna hijau kecoklatan menjadi hijau kekuningan. Senyawa saponin ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil setelah dipanaskan dan dikocok (Rachmawati, 2019).

Steroid atau sterol adalah triterpenoid yang mempunyai dasar bentuk siklopentana perhidrofenantren yang biasanya larut dalam pelarut yang kurang polar. Sehingga dimungkinkan tidak terbentuk warna pada uji fitokimia disebabkan tidak larutnya senyawa steroid kedalam pelarut air. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang mudah larut dalam pelarut polar seperti air,

etanol, methanol dan aseton. Flavonoid bersifat polar karena mengandung sejumlah suatu gula sehingga akan larut dalam pelarut polar. Senyawa alkaloid sukar larut dalam air tetapi larut dalam kloroform, etil asetat, aseton dan alcohol. Saponin bersifat polar sehingga dapat larut dalam pelarut seperti air dan saponin juga bersifat non polar karena memiliki gugus hidrofob yaitu aglikon (sapogenin). Tanin adalah senyawa yang cenderung polar sehingga pelarut polar dapat mengekstrak senyawa tanin dengan optimal. Senyawa alkaloid umumnya merupakan senyawa non-polar, sedangkan kelompok pseudoalkaloid dan protoalkaloid larut dalam air (Sudirman, 2011).

Ekstrak air daun kelor memiliki senyawa aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini dibuktikan oleh uji fitokimia dan didapat hasil positif pada senyawa alkaloid, triterpenoid, flavonoid dan saponin. Mekanisme senyawa triterpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa, akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi dan pertumbuhan bakteri akan terhambat atau mati. Senyawa saponin sebagai antibakteri dapat meningkatkan permeabilitas membran sehingga terjadi hemolisis sel yang apabila berinteraksi dengan sel bakteri maka dinding sel bakteri tersebut akan pecah atau lisis (Halimah, 2019).

Flavonoid dapat menyebabkan denaturasi dan koagulasi protein sel bakteri dimana senyawa flavonoid dalam merusak sel bakteri memanfaatkan perbedaan kepolaran antara lipid penyusun sel bakteri dengan gugus alkohol pada senyawa

flavonoid sehingga dinding akan rusak dan segera mengalami penguraian dan menyebabkan koagulasi protein sehingga membran sel bakteri mengalami lisis (Suryani, 2019). Alkaloid dapat berikatan dengan DNA sel sehingga menimbulkan perubahan keseimbangan genetik pada rantai DNA. Alkaloid pada daun alpukat memiliki mekanisme antibakteri terhadap bakteri gram positif dan negatif dengan cara menghambat DNA bakteri (Wijaya, 2020).

4.5 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini dilakukan dengan metode difusi cakram. Metode difusi cakram adalah metode yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan antibakteri terhadap suatu antibiotik. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada tidaknya daerah bening yang terbentuk di sekitar kertas whatman yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri. Semakin besar zona bening yang terbentuk maka semakin efektif zat tersebut sebagai antibakteri.

Zona bening yang terbentuk pada kertas cakram berisi variasi ekstrak yang dibandingkan dengan kontrol positif dan negatif. Kontrol positif yang digunakan adalah obat atau antibiotik sintetik yang sudah ada yaitu doxycycline. Kontrol positif digunakan sebagai pembanding antara ekstrak daun kelor dengan obat yang sudah ada tersebut. Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO. DMSO digunakan dalam penelitian ini sebagai pengencer ekstrak, kontrol positif dan kontrol negatif. DMSO digunakan karena dapat melarutkan senyawa polar maupun non polar dan tidak akan mengganggu hasil pengamatan karena tidak

memberikan aktivitas terhadap pertumbuhan bakteri. Sehingga zona hambat yang terbentuk murni dari senyawa aktif pada masing masing fraksi.

Tabel 4.5 Hasil rata-rata zona hambat daun kelor terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Konsentrasi (µg/ml)	Rata-rata Zona Hambat (mm)			
	SKJ	SKA	MKJ	MKA
250	2,2	1,9	1,7	1,4
500	3,2	2,7	2,7	2,4
750	3,9	3,9	3,4	3,4
1000	4,6	4,9	4,0	3,7
1250	5,9	5,8	4,9	4,7
Kontrol (+)	9.3	8.6	8.4	8.3
Kontrol (-)	0	0	0	0

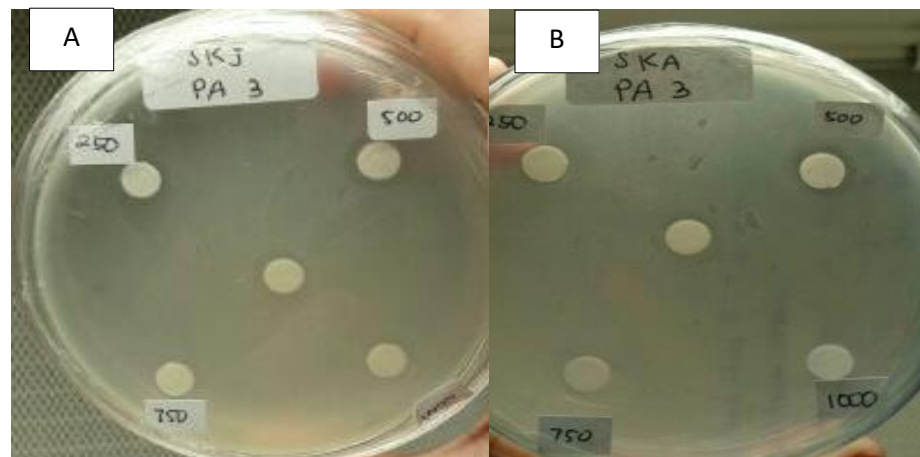
Keterangan : SKJ (Sonikasi Kering Jemur), SKJ (Sonikasi Kering Angin)
MKJ (Maserasi Kering Jemur) dan MKA (Maserasi Kering Angin)

Berdasarkan tabel 4.5 dapat diketahui rata-rata zona hambat sonikasi kering jamur dengan konsentrasi 250 µg/ml, 500 µg/ml, 750 µg/ml, 1000 µg/ml dan 1250 µg/ml yaitu sebesar 2,2 mm, 3,2 mm, 3,9 mm, 4,6 mm dan 5,9 mm. Rata-rata zona hambat sonikasi kering angin sebesar 1,9 mm, 2,7 mm, 3,9 mm, 4,9 mm dan 5,8 mm. Rata-rata zona hambat maserasi kering jamur sebesar 1,7 mm, 2,7 mm, 3,4 mm, 4,0 mm dan 4,9 mm. Rata-rata zona hambat pada maserasi kering angin sebesar 1,4 mm, 2,4 mm, 3,4 mm, 3,7 mm dan 4,7 mm. Interpretasi daya hambat dikategorikan berdasarkan nilai diameter zona hambat. Nilai zona hambat ≤ 15 mm dikategorikan resisten, zona hambat 16-20 mm dikategorikan intermediet dan zona hambat ≥ 21 mm dikategorikan sensitif. Sehingga zona hambat pada semua ekstrak masuk dalam kategori resistensi. Begitupun pada kontrol positif juga termasuk dalam kategori resisten. Resistensi dari suatu obat adalah dimana suatu mikroorganisme dapat menahan efek antibiotik, sehingga membuat suatu antibiotik menjadi kurang efektif (Afifurrahman, 2014). Menurut (Alozie and Sonye 2015) tentang uji aktivitas antibakteri dengan ekstrak air pada

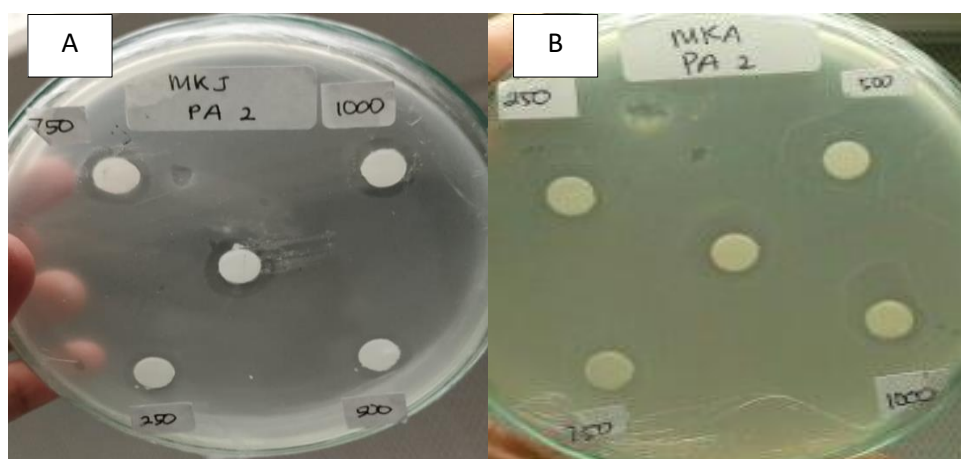
daun kelor dengan metode difusi cakram pada konsentrasi 50 µg/ml, 100 µg/ml, 200 µg/ml dan 400 µg/ml semua konsentrasi membentuk zona hambat. Konsentrasi 50% dan 100% memiliki diameter zona hambat ± 6 mm, pada konsentrasi 200% memiliki diameter zona hambat ± 7 mm dan pada konsentrasi µg/ml memiliki diameter zona hambat ± 8 mm. Semua zona hambat masih dalam ranah resistensi. Sehingga penelitian dan literatur sama.

Berdasarkan hasil penelitian konsentrasi ekstrak air daun kelor 250 µg/ml, 500 µg/ml, 750 µg/ml, 1000 µg/ml dan 1250 µg/ml memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Aktivitas antibakteri ini ditunjukkan dengan adanya zona hambat disekitar kertas whatman yang telah direndam dengan ekstrak air daun kelor. Penelitian (Abubakar, 2016) tentang uji fitokimia dan uji antibakteri daun kelor dengan pelarut air menggunakan cara pengujian difusi zona hambat yang terbentuk mulai dari 8 mm dengan perbandingan ekstrak per pelarut 1:1. Zona hambat yang dihasilkan dari ekstrak air sonikasi kering angin dan sonikasi kering jamur dapat dilihat pada gambar 4.1. Berdasarkan gambar 4.1 diketahui bahwa ekstrak air sonikasi kering angin dan sonikasi kering jamur terus mengalami peningkatan dari konsentrasi 250 µg/ml sampai 1250 µg/ml dengan nilai rata zona hambat pada sonikasi kering jamur 2,2 mm dan 5,9 mm, sedangkan pada sonikasi kering angin 1,9 mm dan 5,8 mm. Menurut Suryani (2019), jika diameter zona hambat kurang dari 5 mm, maka aktivitas penghambatan dikategorikan lemah, jika diameter zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, jika diameter zona hambat 11-20 mm maka dikategorikan kuat dan jika diameter zona hambat diatas 21 mm maka dikategorikan sangat kuat. Berdasarkan hasil tersebut maka zona hambat pada sonikasi kering angin dan

kering jamur masuk dalam kategori lemah dan kategori sedang pada konsentrasi 1250 $\mu\text{g/ml}$.



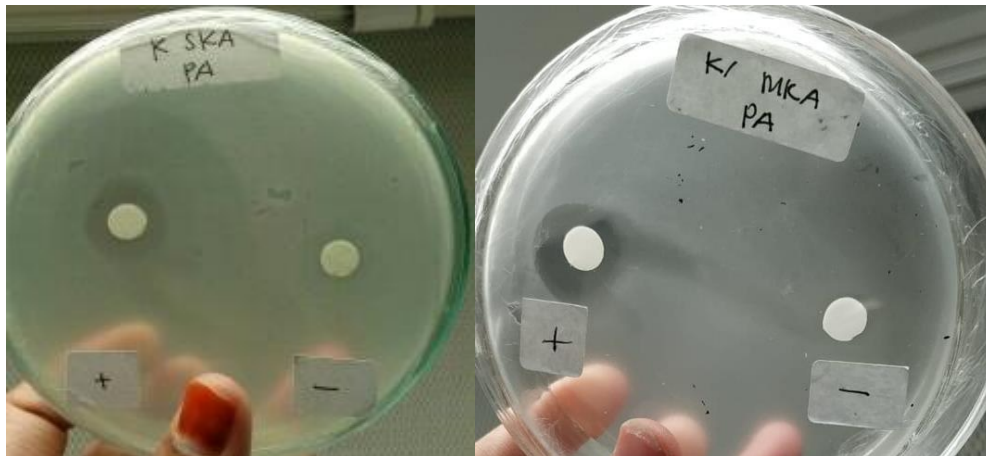
Gambar 4.1 Zona Hambat Ekstrak Sonikasi Kering Jamur Daun *Moringa oleifera* terhadap bakteri terhadap *P.aeruginosa* (A) dan Zona Hambat Ekstrak Sonikasi Kering angin Daun *Moringa oleifera* terhadap bakteri terhadap *P.aeruginosa* (B)



Gambar 4.2 Zona Hambat Ekstrak Maserasi Kering Jamur Daun *Moringa oleifera* terhadap bakteri terhadap *P.aeruginosa* (A) dan Zona Hambat Ekstrak Maserasi Kering angin Daun *Moringa oleifera* terhadap bakteri terhadap *P.aeruginosa* (B)

Berdasarkan gambar 4.2 diketahui bahwa ekstrak air maserasi kering angin dan maserasi kering jamur terus mengalami peningkatan dari konsentrasi 250 $\mu\text{g/ml}$ sampai 1250 $\mu\text{g/ml}$ dengan nilai rata zona hambat pada maserasi kering jamur 1,7 mm dan 4,9 mm, sedangkan pada maserasi kering angin 1,4 mm dan 4,7 mm. Menurut (Suryani, Nurjanah, and Indriatmoko 2019) jika diameter zona hambat kurang dari 5 mm, maka aktivitas penghambatan dikategorikan lemah,

jika diameter zona hambat 6-10 mm dikategorikan sedang, jika diameter zona hambat 11-20 mm maka dikategorikan kuat dan jika diameter zona hambat diatas 21 mm maka dikategorikan sangat kuat. Berdasarkan hasil tersebut maka zona hambat pada maserasi kering angin dan kering jamur masuk dalam kategori lemah yaitu dibawah 5 mm.



Gambar 4.3 Zona Hambat Kontrol Positif dan Kontrol Negatif Sonikasi (A) dan Zona Hambat Kontrol Positif dan Kontrol Negatif Maserasi (B)

Berdasarkan gambar 4.3 zona hambat hanya terbentuk pada kontrol positif, sedangkan pada kontrol negatif tidak terbentuk. Kontrol negatif dengan DMSO terbukti tidak memiliki aktivitas antibakteri, sehingga dapat dipastikan aktivitas antibakteri yang dihasilkan murni dari ekstrak air daun kelor tanpa adanya pengaruh dari pelarut (Amalia, Wahdaningsih, and Untari 2016). Kontrol positif daun kelor pada sonikasi kering jamur memiliki rata-rata zona hambat 9,3 mm, sedangkan pada sonikasi kering angin, maserasi kering jamur dan maserasi kering angin memiliki zona hambat masing masing 8,6 mm, 8,4 mm dan 8,3 mm. Zona hambat pada kontrol positif ekstrak air daun kelor termasuk dalam kategori sedang. Penelitian Nurmala (2016) tentang pola resistensi dan sensitivitas

keseluruhan bakteri terhadap antibiotik menunjukkan bahwa doxycyclin resistensi pada konsentrasi 0% sampai \pm 80%, diatas itu bersifat sensitif.

4.6 Uji Toksisitas Dari Hasil Uji Antibakteri Terbaik

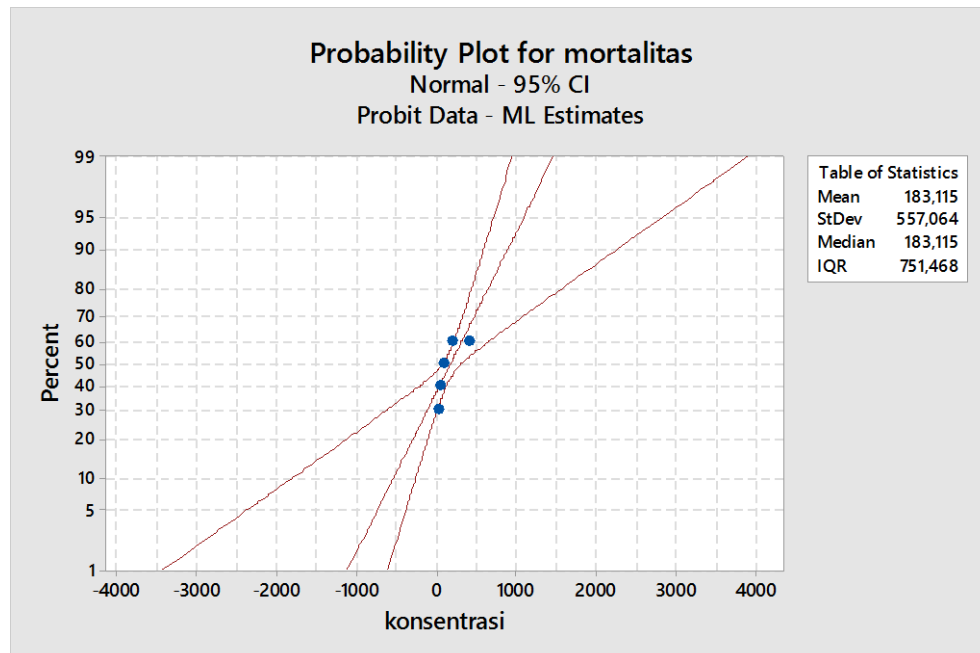
Uji toksisitas dalam penelitian ini dilakukan pada ekstrak air daun *Moringa oleifera* sonikasi kering jamur sebagai data hasil uji toksisitas terbaik. Hasil mortalitas larva udang pada ekstrak air daun *Moringa oleifera* sonikasi kering jamur pada tabel 4.6 menunjukkan bahwa rata-rata kematian larva dalam konsentrasi 25,50,100,200 dan 400 ppm.

Tabel 4.6 Mortalitas Larva Udang Ekstrak Sonikasi Kering Jamur

Konsentrasi (ppm)	Jumlah Larva Mati					Modus	% Mortalitas	Mortalitas
	1	2	3	4	5			
0	1	1	2	1	0	1	10	5
25	2	2	3	2	2	2	20	10
50	4	3	3	4	4	4	40	20
100	3	3	5	5	5	5	50	25
200	3	5	6	5	4	5	50	25
400	5	6	7	6	6	6	60	30
DMSO	0	0	3	0	0	0	0	0
Pelarut	0	2	1	0	0	0	0	0

Berdasarkan gambar 4.4 dapat diketahui semakin besar nilai konsentrasi masing masing ekstrak, maka mortalitas terhadap *Artemia* juga semakin besar. Berdasarkan kurva diatas didapat nilai LC_{50} yaitu 183,115 ppm. Ekstrak dapat dikatakan aktif sebagai antikanker berdasarkan metode BSLT apabila senyawanya bernilai $LC_{50} < 1000$ ppm. Apabila suatu ekstrak memiliki senyawa yang nilai $LC_{50} > 1000$ μ g/ml maka senyawa tidak toksik. Berdasarkan kategori ketoksikan suatu senyawa digolongkan menjadi 3 yaitu < 30 ppm sangat toksik, 30-1000 ppm toksik dan > 1000 ppm tidak toksik (Ajrina,2013). Sehingga dari nilai LC_{50} yang

didapat menunjukkan bahwa ekstrak air sonikasi kering jamur adalah ekstrak dengan kategori toksik yang didalamnya terdapat senyawa dengan peran sebagai antimikroba atau antibakteri.



Gambar 4.4 Model Regresi Linier Probit Uji Sonikasi Kering Jamur pada Minitab

Kematian larva udang berhubungan erat dengan fungsi senyawa aktif yang terkandung dalam daun kelor seperti flavonoid, alkaloid, saponin dan triterpenoid. Mekanisme kematian larva udang karena senyawa aktif. Senyawa saponin mengandung glikosida dalam tanaman yang sifatnya menyerupai sabun. Senyawa saponin akan larut dalam air dan mengikat oksigen yang terlarut dalam air, sehingga kadar oksigen didalam air menurun dan menyebabkan larva udang kekurangan oksigen. Berkurangnya kadar oksigen didalam air menyebabkan larva udang mengalami kematian. Senyawa flavonoid dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan dan penyerapan makanan. Senyawa flavonoid juga dapat bertindak sebagai racun perut yang menyebabkan larva udang kelaparan dan mengalami kematian. Senyawa alkaloid dapat membunuh larva udang karena

alkaloid merupakan komponen aktif yang bekerja di saraf yang dapat menyebabkan gangguan pencernaan. Akibatnya larva udang akan gagal dalam mengenali makanannya dan larva akan mati kelaparan (Khasanah, 2020).

4.7 Analisis Data

Analisis data atau pengaruh variasi dilakukan dengan menggunakan uji statistik *Two Way Anova* atau analisis dua arah. Pada penelitian ini analisis *Two Way Anova* dilakukan dengan taraf kepercayaan sebesar 95%. Analisis dilakukan dengan 2 variabel yaitu variabel bebas (jenis ekstraksi dan variasi konsentrasi) dan variabel terikat (zona hambat). Penelitian ini menunjukkan hasil yang signifikan dari analisis *Two Way Anova* dengan pengaruh variasi pengeringan dan variasi konsentrasi pada daun *Moringa oleifera*.

Tabel 4.7 Data Hasil Uji Statistika

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	67.671 ^a	19	3.562	23.149	.000
Intercept	515.117	1	515.117	3347.991	.000
Ekstraksi_Pengeringan	4.807	3	1.602	10.414	.000
Variasi_Konsentrasi	61.695	4	15.424	100.246	.000
Ekstraksi_Pengeringan * Variasi_Konsentrasi	1.169	12	.097	.633	.790
Error	3.077	20	.154		
Total	585.865	40			
Corrected Total	70.748	39			

Berdasarkan pada uji F ekstraksi pengeringan terhadap zona hambat seperti yang terlihat pada tabel 4.4 didapatkan nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$ ($10,414 > 2,61$) dengan nilai signifikan sebesar $0,000 < 0,005$ (nilai alpha). Nilai tersebut menunjukkan bahwa jenis ekstraksi memiliki pengaruh yang signifikan terhadap zona hambat. Kemudian pada uji F variasi konsentrasi terhadap zona hambat didapatkan nilai

$F_{hitung} > F_{tabel}$ ($100,246 > 2,45$) dengan nilai signifikan sebesar $0,000 < 0,005$ (nilai α). Nilai tersebut menunjukkan bahwa variasi konsentrasi memiliki pengaruh signifikan terhadap zona hambat

Pengaruh variasi yang signifikan terhadap zona hambat dapat dijabarkan melalui uji lanjut atau yang sering disebut uji beda nyata terkecil (BNT). Hasil uji lanjut BNT variasi jenis ekstraksi dapat dilihat pada tabel 4.8.

Tabel 4.8 Hasil Uji BNT Variasi Jenis Ekstraksi	
Jenis Ekstraksi	Notasi
MKA	A
MKJ	A
SKA	B
SKJ	B

Berdasarkan tabel 4.8 didapat notasi huruf yang sama merupakan tidak ada beda nyata antara rata rata zona hambat terhadap perlakuan ekstraksi pengeringan, sedangkan notasi huruf yang berbeda menunjukkan terdapat beda nyata antara rata rata zona hambat terhadap perlakuan variasi jenis ekstraksi. Sehingga dapat disimpulkan rata rata zona hambat *Pseudomonas aeruginosa* terhadap perlakuan ekstraksi pengeringan tidak memberikan perbedaan yang nyata pada rata-rata zona hambat. Begitupun pada ekstraksi pengeringan MKJ dan MKA tidak memberikan perbedaan yang nyata pada rata-rata zona hambat. Tetapi antara ekstraksi pengeringan Sonikasi dan Maserasi terdapat perbedaan yang signifikan.

Tabel 4.9 Hasil Uji BNT Variasi Konsentrasi	
Variasi Konsentrasi	Notasi
250	A
500	B
750	C
1000	D
1250	E

Berdasarkan tabel 4.9 menunjukkan hasil uji BNT Variasi Konsentrasi menunjukkan perbedaan notasi pada setiap variasi konsentrasinya. Konsentrasi dari ekstrak daun *Moringa oleifera* menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, dimana pada setiap variasi konsentrasi memberikan pengaruh yang berbeda nyata. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian masing-masing konsentrasi ekstrak daun *Moringa oleifera* menghasilkan zona hambat yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

4.8 Pemanfaatan *Moringa oleifera* dalam Perspektif Islam

Allah SWT menciptakan segala sesuatu dimuka bumi ini pasti ada arti dan manfaatnya masing masing. Sebagaimana Allah menciptakan manusia dengan kelebihanannya memiliki akal yang bisa berfikir mana yang benar dan salah. Akal manusia juga digunakan untuk berfikir dan mempelajari segala sesuatu yang diciptakan oleh Allah di muka bumi sebagai pembelajaran. Allah berfirman dalam surah Al-Imran : 190

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمُوتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ

Artinya : Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal.

Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi yang tanpa ada contoh sebelumnya dan dalam pergantian malam dan siang dan perbedaan waktu keduanya dengan memanjang dan memendek benar-benar merupakan petunjuk-petunjuk dan bukti-bukti yang agung atas keesaan Allah bagi orang-orang yang mempunyai akal-akal yang selamat (Tafsir al-Muyassar). Tafsir tersebut menunjukkan bahwa akal memang harus digunakan untuk mempelajari ilmu ilmu

di bumi Allah. Ilmu Allah bisa datang dari mana saja salah satunya penyakit. Penyakit bisa datang dari mana saja salah satunya dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Adanya penyakit yang ditimbulkan bakteri akan membuat manusia berfikir bagaimana cara menyembuhkannya. Karena tidak mungkin Allah menciptakan suatu penyakit tanpa adanya obat penawar. Seperti dalam surah Asy-Syu'ara':80

وَإِذَا مَرَضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ

Artinya: “dan apabila aku sakit, Dialah Yang menyembuhkan aku”

Dari ayat tersebut kita tahu bahwa ketika kita sakit maka Allah akan menyembuhkan dengan izin-Nya. Banyak cara Allah untuk menyembuhkan kita. Kita hanya perlu menggunakan akal dan berfikir untuk mencari obat. Untuk mencari obat kita perlu adanya ilmu pengetahuan. Seperti dalam hadits dari Jabir bahwa Rasulullah SAW, bersabda

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ، فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ تَعَالَى (رواه مسلم)

Artinya : “Setiap penyakit pasti ada obatnya. Apabila didapatkan obat yang cocok untuk menyembuhkan suatu penyakit, maka penyakit itu akan hilang seizin Allah Ta'ala” (HR. Muslim).

Hadits tersebut menjelaskan bahwa setiap penyakit pasti ada obatnya. Obat yang cocok akan menyembuhkan penyakit atas izin Allah. Sehingga penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini pasti ada obatnya. Penyakit itu juga akan sembuh ketika diberi obat yang cocok. Beberapa obat ada yang menyembuhkan dengan efek samping. Sehingga perlu kita mencari obat yang menyembuhkan tanpa adanya efek samping, yaitu obat dari ekstrak alami dari tumbuhan seperti tumbuhan kelor, daun kersen, daun katuk, lidah buaya dan masih banyak lagi.

Tanaman yang bisa diuji antibakteri salah satunya adalah daun kelor (Nurmala, 2016).

Kelor merupakan salah satu tumbuhan yang diciptakan oleh Allah SWT. Tumbuhan kelor adalah salah satu tanaman obat yang berkhasiat mulai dari daun, batang, akar maupun biji. Daun kelor menjadi tanaman obat karena kandungan nutrisi yang cukup tinggi sehingga dapat secara fungsional mengatasi kekurangan nutrisi dan menjaga kesehatan. Kandungan nilai gizi yang tinggi ini menjadikan daun kelor dijuluki sebagai Mother's Best Friendl dan Miracle Tree. Daun kelor tidak hanya dapat digunakan sebagai obat dan menambah gizi, tetapi dapat sebagai bahan baku pembuatan kosmetik dan perbaikan lingkungan yang tercemar. Begitu besar ciptaan Allah di bumi ini hanya dari satu tanaman saja terkandung senyawa yang dapat dipakai manusia untuk berbagai macam kegiatan. Itulah sebabnya Allah menyuruh kita menggunakan akal agar kita tahu bahwa banyak pelajaran yang dapat diambil dari apapun yang ada disekitar kita. Allah juga akan menciptakan segala sesuatu sesuai kebutuhan kita. Seperti dalam surah Al-Qamar (49) Allah berfirman

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ

Artinya: "sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran".

Setiap tanaman memiliki kandungan tertentu atau dosis untuk menyembuhkan penyakit. Allah juga sudah menurunkan ayat bahwa sesungguhnya Allah menciptakan segala sesuatu sesuai dengan takarannya tidak lebih dan tidak kurang. Hasil penelitian ini menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dari senyawa saponin, triterpenoid dan tanin yang dibuktikan dengan uji fitokimia. Uji aktivitas antibakteri juga mendapat hasil data berupa zona

hambat. Zona hambat terbaik pada daun kelor ada pada sonikasi kering angin dengan nilai 5,4 mm dan didapat nilai LC_{50} pada uji toksisitas sebesar 183,115 ppm. Penelitian terhadap kandungan daun kelor memiliki banyak manfaat dan membuat kita sadar dan berpikir bahwa sesungguhnya pada penciptaan langit dan bumi terdapat keajaiban keajaiban di dalamnya dan bukti bukti atas kekuasaan Allah SWT.

Seorang ahli kimia, ahli biologi, ahli fisika maupun ahli matematika. Semua akan kagum dengan alam semesta yang luar biasa. Manusia akan terasa kecil dihadapan sang Penciptanya. Manusia yang mampu melihat alam sebagai tanda tanda kebesaran dan keagungan-Nya, Allah sebut Ulil Albab (orang orang yang berfikir). Ulil Albab juga termasuk orang orang yang selalu berfikir dan berzikir atas kekuasaan Allah S.W.T dalam keadaan bagaimanapun, baik dalam keadaan berdiri, duduk atau ketika berbaring. Tugas kita hanya harus terus mempelajari ilmu dan bermanfaat kepada orang lain.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Hasil uji aktivitas antibakteri daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, semua ekstrak memiliki zona hambat. Zona hambat tertinggi pada sonikasi kering angin dan kering jemur di konsentrasi 1250 µg/ml adalah 5,9 mm dan 5,8 mm.
2. Hasil uji toksisitas ekstrak terbaik dari uji antibakteri pada daun kelor (*Moringa oleifera*) menggunakan ekstrak sonikasi kering jemur dan mendapat nilai LC₅₀ sebesar 183,115 ppm

5.2 Saran

1. Diperlukan peningkatan konsentrasi ekstrak daun kelor agar zona hambat lebih besar sehingga dapat membunuh bakteri lebih banyak dan masuk dalam kategori kuat
2. Diperlukan pemisahan senyawa aktif lebih spesifik dengan menggunakan kromatografi lapis tipis dan dengan bantuan instrumen GC-MS dan FTIR agar dapat mengetahui dengan pasti struktur senyawa aktif dalam daun kelor yang bersifat sebagai antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifurrahman, dkk. 2014 Pola Kepekaan Bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap Antibiotik Vancomycin di RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang. *MKS*. No 4
- Agustie, A.W.D. dan Ratno A.S. 2013. “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Maserasi Daun Kelor (*Moringa oleifera*, Lamk) terhadap Bakteri *Staphylococcus auerus*. *Jurnal Biomedika*, 6 (2): 14-19.
- Alozie, Yetunde E. dan Comfort U. Sonye. 2015 Antimicrobial Activity of *Moringa oleifera* Leaf Against Isolate of Beef Offal. *British Microbial Research Journal*. Vol 9 (2)
- Amabye, dkk. 2016. Phytochemical and Antibacteria Activity of *Moringa oleifera* available in the market of Mekelle. *Journal of Analytical and Pharmaceutical Research*. Vol 2 (1): 23-26
- Amalia, S, dkk. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksan Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus Britton & Rose*) Terhadap Bakteri *Stapylococcus Aureus* ATCC 25923. *Jurnal Fitomarmaka*. Vol 1 No 2
- Anggraini, Doya Fitri. 2018. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sonikasi Terhadap Kadar Total Antosianin Ekstrak Etanol 96% Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas L.*). *Thesis*. Universitas Brawijaya
- Ansel, C.H.1989. Pengantar bentuk sediaan farmasi. UI Press
- Anwar, syaiful, dkk. 2014. Uji Toksisitas Ekstrak Akuades (Suhu Kamar) dan Akuades Panas (70°C) Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Alchemy*. Vol 3 No 1
- Ardani, M., Pratiwi, S.U.T. dan Hertiani T. 2010. Efek campuran minyak atsiri daun cengkeh dan kulit batang kayu manis sebagai antiplak gigi. *Majalah Farmasi Indonesia*. 3(21):194.
- Beers, S.J. 2012. Jamu: The ancient Indonesian art of herbal healing. Tuttle Publishing.
- Dahot M U., 1998, Antimicrobial activity of Small Protein of *Moringa oleifera* Leaves. *J Islam Acad Sci* 11 (1): 27-32
- Davis, W.W and Stout, T.R. 1971. Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay. *Microbiology*. 22(4): 659-665
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Jakarta : Dektoreta Jendral POM-DepkesRI

- Dharmayanti, I Gusti Ayu Mas Putri dan Dewa Made Sukrama. 2019. Karakteristik Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* terhadap antibiotik di Intensive Care Unit (ICU) Dima, Lusi L.R.H, dkk. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Pharmakon*. Vol 5 No 2
- Dima, Lusi L.R.H, dkk. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol 5 No 2
- Djauhariya, E dan Hermani. 2004. *Gulma Berkhasiat Obat*. Jakarta: Swadaya
- Fadli, dkk. 2019. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Weight) Walp.) Dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Medical Sains*. Vol 3 No 1
- Febrina, Lia, dkk. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Escherichia coli* dan Antioksidan dari Ekstrak Air Tumbuhan Binara (*Artemisia vulgaris* L).
- Hadioetomo, R. S. 1993. *Mikrobiologi dasar dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Jakarta: Gramedia
- Handayani, Hana, dkk. 2016. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode Ultrasonik Bath (Kajian Rasio Bahan : Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol 4 No 1.
- Harmita dan Maksum Radji. 2008 Buku Ajar Analisis Hayati, Edisi 3. Jakarta : EGC Penerbit Buku Kedokteran
- Idris, Abubakar and Usman Abubakar. 2016. Phytochemical and antibacterial investigations of moringa (*Moringa oleifera*) leaf extract on selected bacterial pathogens. *Journal of Microbiology and Antimicrobials*. Vol 8(5)
- Jawetz, E. Melnick, J.L dan Adelberg, E.A. 2001. Medical Microbiology Twenty Second Ed. Buku 1. Terjemahan Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta : Salemba Medika.
- Katrin, Dina, dkk. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Daun Malek (*Litsea gracieae vidal* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Vol 4 No 1.
- Khasanah, Nur Wakidatul. 2020. Uji Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Umbi *Hydnophytum* sp. Terhadap *Artemia salina* Leach. *Journal of Science*. Education. Vol 4 No 1
- Kristianti, A, N, dkk. 2008. *Buku Ajar Farmasi Fitokimia*. Cetakan I. Surabaya: Airlangga University Press.

- Kuntari, Aprianto, T., Noor, R. H., & Baruji. (2017). Verifikasi Metode Penentuan Asetosal dalam Obat Sakit Kepala dengan Metode Spektrofotometri UV. *Jurnal Sains dan Teknologi*, 6(1), 31-40.
- Kurniawati, indah, dkk. 2018. Karakteristik Tepung Daun Kelor Dengan Metode Pengeringan Sinar Matahari. *Prosiding Seminar Nasional Unimus*. Vol 1
- Lay, B.W dan Hastowo, S. 1992. *Mikrobiologi*. Bogor : IPB
- Lay, B.W. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. Edisi 1. Raja Grafindo Persada, Jakarta
- Manasika, Arina dan Simon Bambang Widjanarko. 2015. Ekstraksi Pigmen Karotenoid Labu Kabocha Menggunakan Metode Ultrasonik (Kajian Rasio Bahan : Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol 3 No 3
- Manoi F. 2006. Pengaruh Cara Pengeringan Terhadap Mutu Simplisia Sambiloto. *Bul. Littro17* (1) : 1-5
- Mardiana, L. 2012. Daun Ajaib Tumpas Penyakit. Jakarta: Penebar Swadaya
- McLaughlin, J.L., Chang C.J., Smith D.L. Bench. 1991. Top Bioassays for the Discovery of Bioactive Natural Products An Update. In: Atta-urRahman, ed. *Studies in Natural Products Chemistry*. Amsterdam: Elsevier. IX: 388–409
- Meigaria, K.M., Mudianta, I.W., Martiningsih, N.W., 2017. Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak aseton daun kelor (*Moringa oleifera*). *Jurnal Wahana Matematika dan Sains*, 10(2): 1–11.
- Meyer, Laughlin, Ferrigini. 1982. “Brine Shrimp: Convenient General Bioassay for Active Constituent”. *Planta Medica* 45, 31 – 34.
- Mioara D. 2011. *Artemia salin*. *Research Journal Balneo*. Vol.2 (4) ;119-122 North Clarendon, USA.
- Nurmala, dkk. 2015. Resistensi dan Sensitivitas Bakteri Terhadap Antibiotik di RSUD dr. Soedarso Pontianak Tahun 2011-2013. *eJKI*. Vol 3 (1)
- Pelczar. 2006. Dasar Dasar Mikrobiologi. Jakarta: UI Press
- Pradana, Dhigna Luthfiyani Citra dan Aprilla Ayu Wulandari. 2019. Uji Total Flavonoid dari Ekstrak Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*) dan Secang (*Caesalpinia sappan* L.). *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. Vol 2 (2)
- Pratiwi, S.T. 2008. Mikrobiologi Farmasi, Erlangga, Jakarta

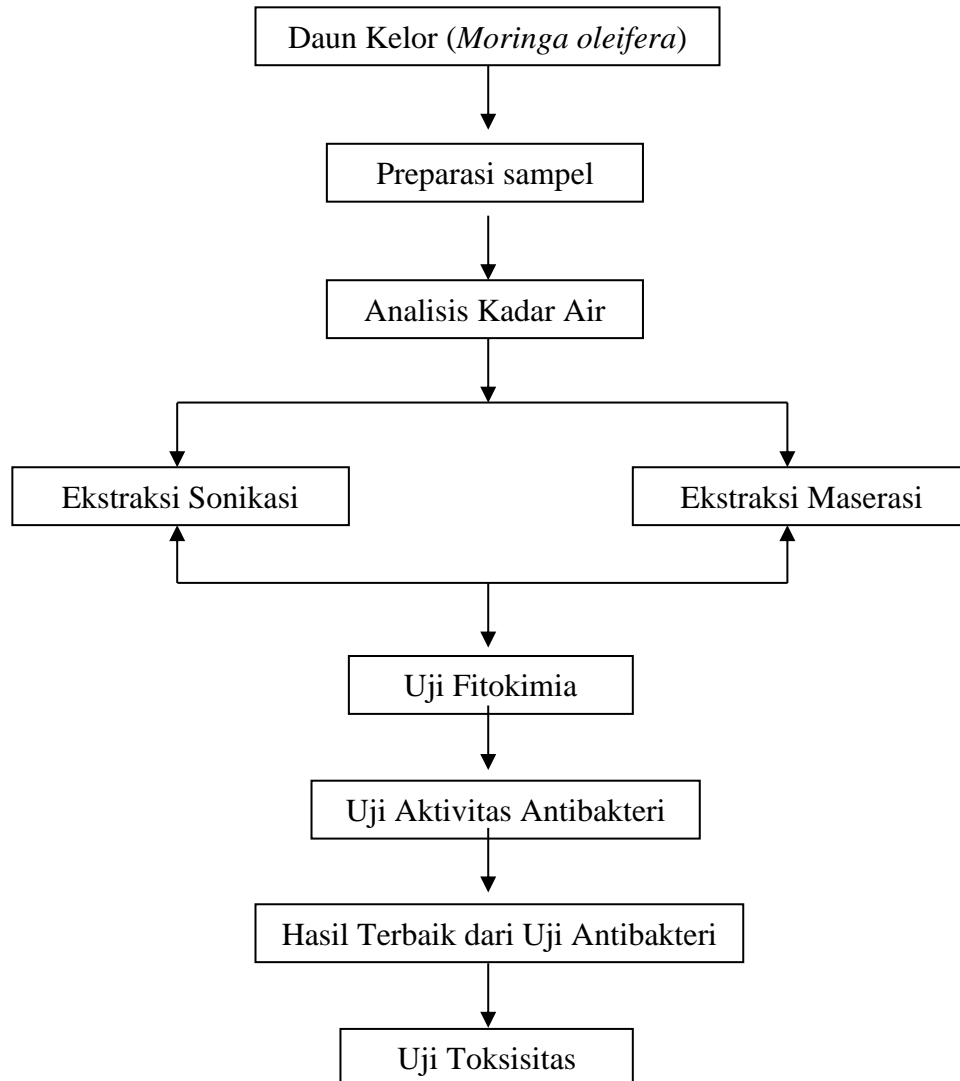
- Rachmawati, Siti Rahayu dan Junie Suriawati. 2019 Characterization Of (*Moringa oleifera* Lam.) Leaf Water Extracts By Chemical And Microbiology. *Jurnal Teknologi dan Seni Kesehatan*. Vol 10 No 2
- Rijayanti, Rika Pratiwi. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. *Skripsi*. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura.
- Rizkayanti, dkk. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstran Air dan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* LAM). *J.Akademika Kim*. Vol 6 no 2
RSUP Sanglah Pada Bulan November 2014- Januari 2015. *E-jurnal Medika*. Vol 8 No 4.
- Sa'adah, Hayatus dan Henny Nurhasnawati. 2015. Perbandingan Pelarut Etanol dan Air pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine American Merr*) Menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. Vol 1 No 2 Hal 149-153.
- Sa'adah, Siti Mamluatus, dkk. 2016. Pengaruh Kelapa Sebagai Media Pertumbuhan Alternatif Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*) Terhadap Aktivitas Antimikroba. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. Vol 5 No 1 Hal 2337-3520
- Sabathani, Anniversary, dkk. 2018. *Optimasi Waktu Ekstraksi Dan Rasio Bahan Per Pelarut Ekstrak Daun Pepaya Untuk Uji Aktivitas Antibakteri*. *Jurnal Teknologi Pertanian*. Vol 19 No 3.
- Sari, dkk. 2020. Teknologi Pengolahan Tanaman Kelor Bagi PKK dan LMK Kelurahan Penggilingan Cakung Jakarta Timur. Seminar Nasional Pengabdian Masyarakat.
- Savitri, Ganevi R., dkk. 2020. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Tumbuhan Anyang Anyang (*Elaeocarpus grandiflorus* J. E. Smith.) terhadap *Escherchia coli*. *JPSCR (Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research)*. Vol 1 Hal 22-32
- Siregar, S.F. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Air Rebusan Kulit Batang Ingul (*Toona sinensis* M. Roem) Terhadap Beberapa Bakteri. [*skripsi*]. Fakultas Farmasi USU, Medan.
- Sondari, Dewi, dkk. 2016. Studi Awal Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendeme dan Kadar Asiaticoside dari *Centella Asiatica* (L) URB. *Jurnal Sains Materi Indonesia*. Vol 17 No 3
- Sudarsono, A. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri pada Ikan Laut dalam Spesies Ikan Dindara (*Lepidocibium flavobronneum*. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

- Suhartati, R dan Isni Nurasiah. 2016. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Secara In Vitro. *Jurnal Kesehata Bakti Tunas Husada*. Volume 16 No 1.
- Sulviana, Aulia Wahyu,dkk. 2017. Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* dan Uji Sensitivitas terhadap Antibiotik dari Sampel Pus Infeksi Luka Operasi di RSUD Dr.Moewardi. *Biomedika*. Vol 10 no 02.
- Sunatmo, T . I. 2007 *Eksperimen Mirobiologi dalam Laboratorium*. Bogor: Ardy Agency
- Supriyono. 2003. *Mengukur Faktor-Faktor dalam Proses Pengeringan*. Gramedia: Jakarta
- Susanty, dkk. 2019. Metode Ekstraksi Untuk Perolehan Kandungan Flavonoid Tertinggi Dari Ekstrak Daun Kelor(*Moringa oleifera* Lam). *Jurnal Konversi*. Vol 8 No 2
- Toripah, Shintia Susanti,dkk. 2014. Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Total Fenoik Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera lam*). *Pharmacon*. Vol 3 No 4
- Trisharyanti, I. (2017). Skrining aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun terhadap salmonella typhi resisten kloramfenikol. JPSCR : Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research, 2(2):66
- Utami, Prapti. (2013).The Miracle of Herbs, Agro Media Pustaka, Jakarta.
- Verdiana, M., Widarta, I.W.R., Permana, I.D.M., 2018. Pengaruh Jenis Pelarut Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (*Citrus Limon (Linn.) Burm F.*) *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 7(4): 213-222.
- Victor, L. 1980. Antibiotics in Laboratory Test. The Williams and Wilkins Company, USA.
- Vinoth, B. 2012. Phytochemical Analysis and Antibacterial Activity of *Moringa oleifera* LAM. *International Journal of Research in Biological Sciences*. Vol 2 No 3 Hal 98-102
- Wahyuni, Rina, dkk. 2014. Pengaruh Cara Pengeringan dengan Oven, Kering Angin dan Cahaya Matahari Langsung Terhadap Mutu Simplisia Herba Sambiloto. *Jurnal Farmasi Higae*. Vol 6 No 2.
- Wibowo, S. 2013. *Artemia*. Jakarta : Penebar Swadaya
- Widowati, Imas dkk. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Bakteri Pembusukan Ikan Segar (*Pseudomonas Aeruginosa*). *Pelita*. Vol 9 No 1

- Wijaya, Heri, dkk. 2018. Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambai Laut (*Sonneratia caseolaris* L. Engl). *Jurnal Ilmiah Manuntung*. Vol 4 No 1
- Winarmo, FG. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta : PT Gramedia Pustaka Utama
- Wulandari, May Ayu, dkk. 2017. Uji Toksisitas Subkronis Serbuk, Ekstrak Air Dan Ekstrak Pekat Suplemen Kalsium Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam) Pada Fungsi Hepar dann Ginjal Tikus Wistar (*Rattus norvrgicus*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol 5 No 4
- Yovitasari, Destri, dkk. 2018. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan Metode Difusi Agar. *Jurnal Farmasi Malahayati*. Vol 1 No 1.
- Yustina, S.H. 2008. *Daya Antibacteria Campuran Ekstrak Etanol Buah Adas (*Foeniculum vulgare*.Mill) Dan Kulit Batang Pulasari (*Alyxia reindwartii* BL)*. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
- Zullaikah, S, dkk. 2019. Enhanced Extraction of Phenolic Compounds From *Moringa Oleifera* Leaves Using Subcritical Water Ethanol Mixture. *ISICChem*.

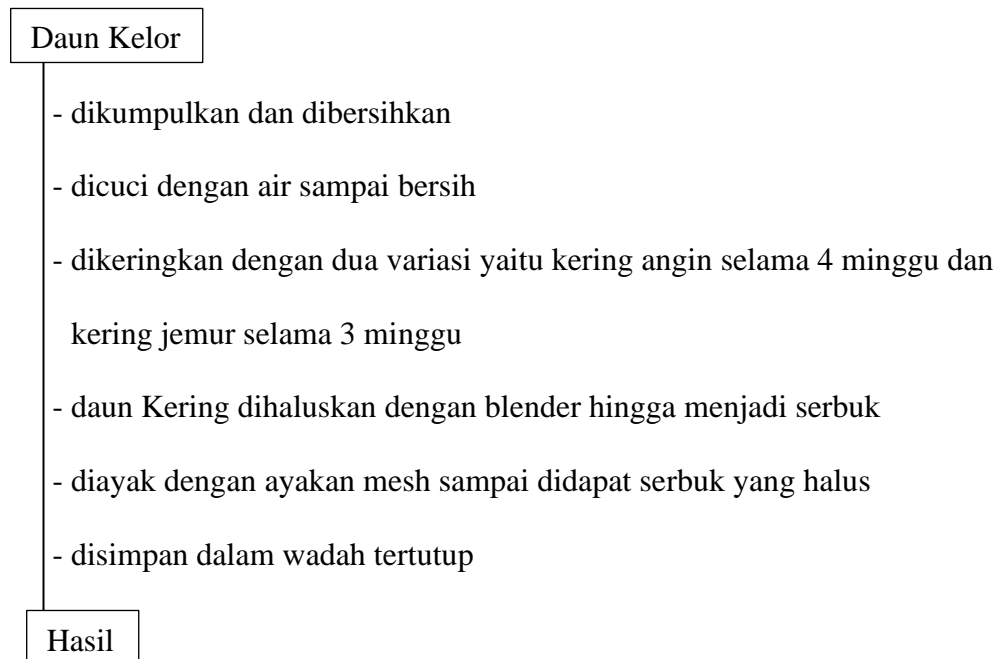
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian



Lampiran 2 Diagram Alir

2.1 Preparasi sampel



2.2 Analisa Kadar air

Daun Kelor

- dimasukkan cawan porselen ke dalam oven dengan suhu 105°C selama 1 jam
- didinginkan cawan porselen pada desikator selama 15 menit
- ditimbang hingga cawan porselen konstan
- dimasukkan 1 gram serbuk daun Moringa oleifera ke dalam cawan kosong
- dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 105°C selama 1 jam
- didinginkan ke dalam desikator selama 15 menit
- ditimbang
- dilakukan dengan perlakuan sama sampai didapat berat konstan
- dihitung kadar air serbuk Moringa oleifera menggunakan rumus

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{b-c}{b-a} \times 100\%$$

Keterangan: a = berat cawan kosong

b = berat sampel + cawan sebelum dikeringkan

c = berat cawan + sampel setelah dikeringkan

Hasil

2.3 Pembuatan ekstrak daun kelor

a. Maserasi

Serbuk Daun Kelor

- dimasukkan 25 gr tepung daun kelor kedalam gelas beker
- ditambahkan 250 ml aquades
- dimaserasi diatas *shaker* selama 24 jam
- disaring ekstrak dengan kertas whatman no 1
- dilakukan *rotary evaporator* sampai ekstrak mengental
- dihitung rendemen dengan rumus

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat Akhir Sampel}}{\text{Berat Awal Sampel}} \times 100\%$$

Hasil

b. Sonikasi

Serbuk Daun Kelor

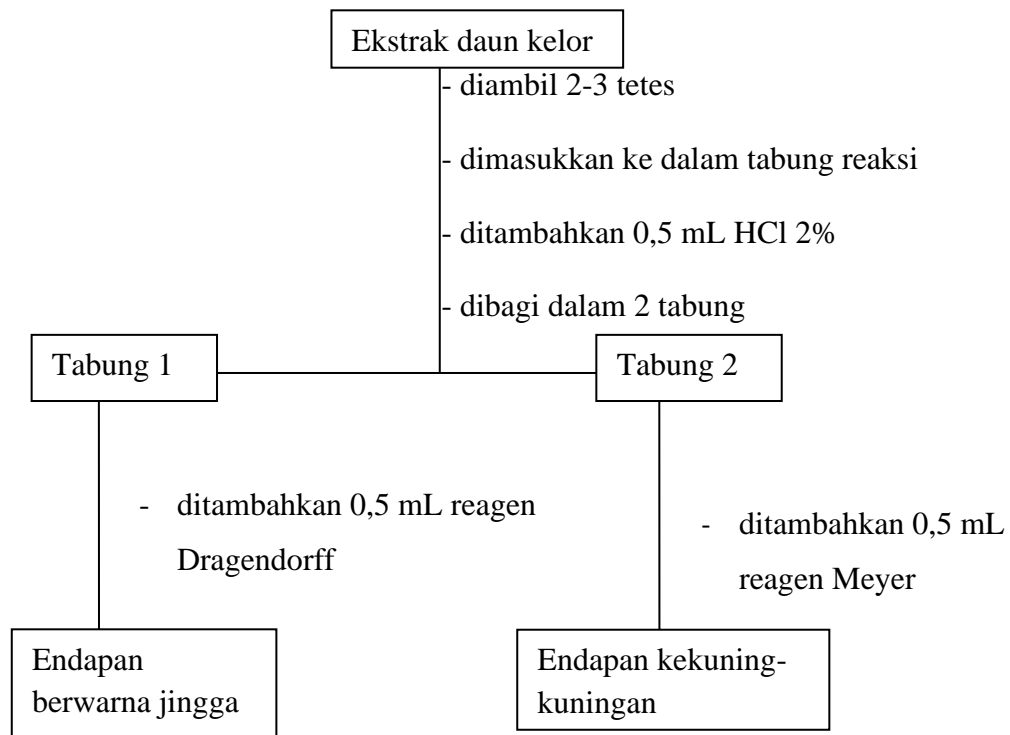
- dimasukkan 25 gr tepung daun kelor dimasukkan kedalam gelas beker
- ditambahkan 250 ml aquades
- diekstrak dengan alat ultrasonik dengan frekuensi 42 kHz selama 20 menit
- disaring ekstran dengan kertas whatman no 1
- dilakukan *rotary evaporator* sampai ekstrak mengental
- dihitung rendemen dengan rumus

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat Akhir Sampel}}{\text{Berat Awal Sampel}} \times 100\%$$

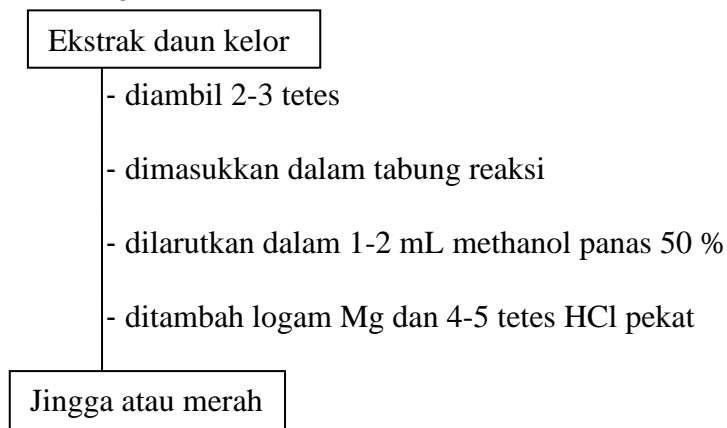
Hasil

2.4 Uji Fitokimia dengan Uji Reagen

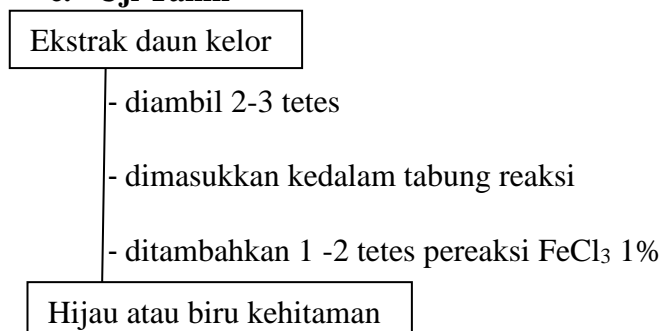
a. Uji Alkaloid



b. Uji Flavonoid



c. Uji Tanin



d. Uji Saponin

Ekstrak daun kelor

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> - diambil 2-3 tetes - dimasukkan ke dalam tabung reaksi - ditambahkan air panas - didinginkan - dikocok selama 10 detik - diamati perubahan yang terjadi - ditambahkan kembali 1 tetes HCl 2N - diamati kembali perubahan yang terjadi |
|---|

Busa stabil selama 10 menit dengan ketinggian 1-3 cm
--

e. Uji Steroid dan Triterpenoid

Ekstrak daun kelor

- | |
|--|
| <ul style="list-style-type: none"> - diambil 2-3 tetes - dimasukkan ke dalam tabung reaksi - ditambahkan 2 – 3 tetes asam asetat anhidrat - diaduk secara perlahan beberapa saat sampai kering - ditambahkan 1 – 2 tetes asam sulfat pekat - diamati pewarnaan yang timbul |
|--|

Warna merah atau merah ungu (Triterpenoid)
--

Warna hijau-biru (Steroid)

f. Analisis aktivitas antibakteri**a. Sterilisasi Alat**

Alat Gelas

- dicuci alat yang akan disterilkan hingga bersih
- dimasukkan kedalam autoklaf
- disterilkan pada suhu 121°C selama 20 menit

Hasil

b. Pembuatan Media Padat

Serbuk NA (Nutrient Agar)

- ditimbang 10 gr NA
- dimasukkan kedalam erlenmeyer 1000 ml
- dilarutkan dengan 500 ml aquades
- ditutup dengan aluminium foil
- dihomogenkan dengan stirrer diatas penangas air hingga mendidih
- dimasukkan 10 ml kedalam tabung reaksi
- ditutup dengan kapas dan plastik wrap
- disterilkan menggunakan autoclave selama 15 menit dengan suhu 121°C
- dimasukkan kedalam rak dengan posisi miring
- didiamkan hingga mengeras

Hasil

c. Pembuatan Media Cair**Serbuk NB (Nutrient Broth)**

- ditimbang 28 gr NB
- dimasukkan kedalam erlenmeyer 1000 ml
- dilarutkan dengan 500 ml aquades
- ditutup dengan aluminium foil
- dihomogenkan dengan stirrer diatas penangas air hingga mendidih
- dimasukkan 10 ml kedalam botol uc
- ditutup dengan kapas dan plastik wrap
- disterilkan menggunakan autoclave selama 15 menit dengan suhu 121°C

Hasil**d. Peremajaan Biakan Murni Bakteri****Isolat Murni Bakteri**

- dipanaskan jarum ose diatas api
- diambil 1 ose bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dari isolat murni
- ditanam bakteri dengan digoreskan pada media agar miring
- ditutup dengan kapas dan plastik wrap
- diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C
- dilakukan di *laminar air flow* dalam keadaan steril

Biakan Murni

e. Pembuatan Larutan Biakan Bakteri pada Nutrient Broth (NB)

Bakteri Biakan Murni

- disterikan jarum ose diatas api
- diambil 1 ose bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang telah diinokulasi
- disuspensikan bakteri ke dalam botol yang berisi 10 ml larutan NB
- ditutup menggunakan kapas dan plastik wrap
- dihomogenkan
- diinkubasi selama 8 jam pada suhu 37°C

Hasil

f. Pembuatan dan Peresapan Kertas Cakram

Kertas Whatmann no 1

- dipotong ukuran 7 mm
- disterikan ke dalam autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 15 psi selama 15 menit
- didinginkan

Kertas Cakram

- direndam selama 30 menit kedalam larutan kontrol positif, kontrol negatif dan ekstrak 250 µg/ml, 500 µg/ml, 750 µg/ml, 1000 µg/ml dan 1250 µg/ml

Hasil

g. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor

Larutan Biakan Aktif

- diambil 0,1 ml
- dimasukkan ke dalam cawan petri
- dimasukkan media NA kedalam cawan petri
- dihomogenkan dengan berbentuk angka 8 agar rata pada cawan petri
- ditunggu hingga agar memadat
- diletakkan kertas whatman ke dalam cawan petri dengan jarak 3 cm setiap dan 2 cm untuk ke tepi
- diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam
- dilakukan di *laminar air flow* dalam keadaan steril

Hasil

h. Pengukuran Zona Hambat Ekstrak Daun Kelor

Cawan Petri yang berisi bakteri

- diamati zona bening bakteri
- diukur diameter daerah hambat disekitar kertas cakram dalam satuan (mm) dengan mistar
- dihitung luas zona hambat dengan rumus

$$L_z = L_{av} - L_d$$

Hasil

2.5 Uji Toksisitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor

a. Penetasan telur Larva udang *Artemia salina* Leach

Air Laut

- dimasukkan 250 mL ke dalam bejana penetasan
- dimasukkan telur *Artemia salina* Leach sebanyak 2,5 mg
- diaerasi dengan cara memberikan aerator ke dalam bejana penetasan
- ditutup telur dengan alumunium foil sehingga ruangan menjadi gelap dan lampu dinyalakan selama 48 jam
- diambil larva udang *Artemia salina* Leach yang akan diuji dengan menggunakan pipet

Hasil

b. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Kelor

Ekstrak hasil antibakteri terbaik

- diambil ekstrak dengan hasil antibakteri terbaik
- dimasukkan 10 mg kedalam gelas beker
- ditambah 10 ml air laut

1000 ppm

- diambil 250 µl, 500 µl, 1000 µl, 2000 µl dan 4000µl
- dimasukkan kedalam 10 ml botol
- ditambah 5 ml air laut
- ditambah 1 tetes ragi roti
- ditambah air laut sampai mendekati tanda batas
- dihomogenkan
- ditambah 10 ekor larva udang
- diamati selama 24 jam
- dihitung kematian larva udang dengan rumus

$$\% \text{ kematian larva udang Artemia salina} = \frac{T-K}{10} \times 100\%$$

Hasil

2.5 Analisa Data

a. Analisa Data Uji Aktivitas Antibakteri

Data Hasil Uji Antibakteri

- dilakukan pengujian dengan menggunakan aplikasi SPSS

Hasil

b. Analisa Data Uji Toksisitas Ekstrak Terbaik Dari Uji Antibakteri

Data Hasil Uji Toksisitas

- dilakukan pengujian dengan menggunakan aplikasi MINITAB

Hasil

Lampiran 3. Perhitungan

L3.1 Pembuatan larutan uji antibakteri konsentrasi 25, 50, 75, 100 dan 125 ppm

a. 250 ppm

$$\text{Massa sampel} = 250 \mu\text{g/mL} \times 3 \text{ mL} = 750 \mu\text{g} = 0,75 \text{ mg}$$

Jadi untuk membuat larutan uji dengan konsentrasi 250 ppm dibutuhkan 0,75 mg ekstrak yang dilarutkan dengan 3 mL pelarut air sehingga didapat ekstrak dengan konsentrasi 250 ppm sebanyak 3 mL.

b. 500 ppm

$$\text{Massa sampel} = 500 \mu\text{g/mL} \times 3 \text{ mL} = 1500 \mu\text{g} = 1,5 \text{ mg}$$

Jadi untuk membuat larutan uji dengan konsentrasi 500 ppm dibutuhkan 1,5 mg ekstrak yang dilarutkan dengan 3 mL pelarut air sehingga didapat ekstrak dengan konsentrasi 500 ppm sebanyak 3 mL.

c. 750 ppm

$$\text{Massa sampel} = 750 \mu\text{g/mL} \times 3 \text{ mL} = 2250 \mu\text{g} = 2,25 \text{ mg}$$

Jadi untuk membuat larutan uji dengan konsentrasi 750 ppm dibutuhkan 2,25 mg ekstrak yang dilarutkan dengan 3 mL pelarut air sehingga didapat ekstrak dengan konsentrasi 750 ppm sebanyak 3 mL.

d. 1000 ppm

$$\text{Massa sampel} = 1000 \mu\text{g/mL} \times 3 \text{ mL} = 3000 \mu\text{g} = 3 \text{ mg}$$

Jadi untuk membuat larutan uji dengan konsentrasi 1000 ppm dibutuhkan 3 mg ekstrak yang dilarutkan dengan 3 mL pelarut air sehingga didapat ekstrak dengan konsentrasi 1000 ppm sebanyak 3 mL.

e. 1250 ppm

$$\text{Massa sampel} = 1250 \mu\text{g/mL} \times 3 \text{ mL} = 3750 \mu\text{g} = 3,75 \text{ mg}$$

Jadi untuk membuat larutan uji dengan konsentrasi 1250 ppm dibutuhkan 3,75 mg ekstrak yang dilarutkan dengan 3 mL pelarut air sehingga didapat ekstrak dengan konsentrasi 1250 ppm sebanyak 3 mL.

L3.2 Pembuatan larutan stok 1000 ppm untuk uji toksisitas

$$\text{Volume labu ukur} = 10 \text{ mL}$$

$$\text{Ppm} = \mu\text{g/mL}$$

$$\text{M larutan stok} = 1000 \text{ ppm} = 1000 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Massa ekstrak} = 1000 \mu\text{g/mL} \times 10 \text{ mL}$$

$$= 10000 \mu\text{g}$$

$$= 10 \text{ mg}$$

Jadi untuk membuat larutan stok 1000 ppm, dibutuhkan ekstrak sebanyak 10 mg, kemudian ditambahkan pelarut sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

L3.3 Pembuatan larutan uji toksisitas konsentrasi 25, 50, 100, 200 dan 400 ppm

a. 25 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 25 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,25 \text{ mL}$$

$$= 250 \mu\text{L}$$

Jadi untuk membuat larutan uji dengan konsentrasi 25 ppm dibutuhkan larutan stok 1000 ppm sebanyak 250 μL

b. 50 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 50 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,50 \text{ mL}$$

$$= 500 \text{ } \mu\text{L}$$

Jadi untuk membuat larutan uji dengan konsentrasi 50 ppm dibutuhkan

larutan stok 1000 ppm sebanyak 500 μL

c. 100 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 100 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

$$= 1000 \text{ } \mu\text{L}$$

Jadi untuk membuat larutan uji dengan konsentrasi 100 ppm dibutuhkan

larutan stok 1000 ppm sebanyak 1000 μL

d. 200 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 200 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 2 \text{ mL}$$

$$= 2000 \text{ } \mu\text{L}$$

Jadi untuk membuat larutan uji dengan konsentrasi 200 ppm dibutuhkan

larutan stok 1000 ppm sebanyak 2000 μL

e. 400 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 400 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 4 \text{ mL}$$

$$= 4000 \text{ }\mu\text{L}$$

Jadi untuk membuat larutan uji dengan konsentrasi 400 ppm dibutuhkan larutan stok 1000 ppm sebanyak 4000 μL .

Lampiran 4 Data dan Perhitungan Hasil Penelitian

L4.1 Preparasi Sampel

Sampel	Berat Awal (g)	Berat Akhir (g)
Daun kelor kering angin	2000	600
Daun kelor kering jemur	2000	745

L4.2 Kadar Air Simplisia Daun Kelor

a. Kadar Air Simplisia Daun Kelor Kering Angin

Pengulangan	Cawan kosong (g)	Cawan + sampel sebelum dikeringkan (g)	Cawan + sampel setelah dikeringkan (g)
P1	73,4301	74,4606	74,3731
P2	73,4603	74,4606	74,3859
P3	73,4604	74,4606	74,3758
P4	73,4605	74,4606	74,3651
P5	73,4606	74,4606	74,3636
P6	73,4606	74,4606	74,3616
P7	73,4606	74,4606	74,3627

$$\text{Kadar air} = \frac{b-c}{b-a} \times 100\%$$

Keterangan:

a = berat cawan kosong

b = berat sampel + cawan sebelum dikeringkan

c = berat cawan + sampel setelah dikeringkan

$$\text{Kadar Air} = \frac{74,4606 - 74,3627}{74,4606 - 73,4606} \times 100\% = 9,79\%$$

b. Kadar Air Simplisia Daun Kelor Kering Jemur

Pengulangan	Cawan kosong (gr)	Cawan + sampel sebelum dikeringkan (gr)	Cawan + sampel setelah dikeringkan (gr)
-------------	-------------------	---	---

P1	65,0347	66,0555	65,9872
P2	65,0547	66,0555	65,9827
P3	65,0549	66,0555	65,9908
P4	65,0555	66,0555	65,9749
P5	65,0555	66,0555	65,9759
P6	65,0555	66,0555	65,9736
P7	65,0555	66,0555	65,9733

$$\text{Kadar air} = \frac{b-c}{b-a} \times 100\%$$

Keterangan:

a = berat cawan kosong

b = berat sampel + cawan sebelum dikeringkan

c = berat cawan + sampel setelah dikeringkan

$$\text{Kadar Air} = \frac{66,0555 - 65,9733}{66,0555 - 65,0555} \times 100\% = 8,22\%$$

L4.3 Rendemen Daun Kelor Hasil Ekstraksi

Variasi Ekstraksi	Berat Awal Sampel (g)	Berat Akhir Sampel (g)	Rendemen (%)
Sonikasi Kering Jemur	25	10,12	40,48
Sonikasi Kering Angin	25	7,591	30,36
Maserasi Kering Jemur	25	4,459	17,83
Maserasi Kering Angin	25	3,659	14,75

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat akhir ekstrak}}{\text{berat awal ekstrak}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen Sonikasi Kering Jemur} = \frac{10,12}{25} \times 100\% = 40,48$$

$$\text{Rendemen Sonikasi Kering Angin} = \frac{7,591}{25} \times 100\% = 30,36$$

$$\text{Rendemen Maserasi Kering Jemur} = \frac{4,459}{25} \times 100\% = 17,83$$

$$\text{Rendemen Maserasi Kering Angin} = \frac{3,659}{25} \times 100\% = 14,75$$

Lampiran 5 Data Hasil Uji

L5.1 Data Hasil Uji Fitokimia

No	Ekstrak	P	Alkaloid		Flavonoid	Tanin	Saponin	Steroid	Triterpenoid
			Dragendrof	Mayer					
1	E. Air (KJ) (M)	1	+	+	+	-	+	-	+
		2	+	+	+	-	+	-	+
		3	+	+	+	-	+	-	++
2	E. Air (KA)(M)	1	+	-	++	-	++	-	++
		2	+	-	++	-	++	-	++
		3	+	-	+	-	++	-	++
3	E. Air (KJ) (S)	1	+	+	++	-	+	-	+
		2	+	+	++	-	+	-	++
		3	+	+	+	-	+	-	-
4	E. Air (KA) (S)	1	+	-	+	-	+	-	+
		2	+	-	+	-	+	-	++
		3	+	-	+	-	+	-	++

Keterangan :

Tanda ++ : terkandung senyawa lebih/warna pekat

Tanda + : terkandung senyawa/warna muda

Tanda - : tidak terkandung senyawa/ tidak terbentuk warna

L5.2 Data Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

a. Sonikasi Kering Jemur

Konsentrasi (µg/ml)	Zona Hambat (mm)							
	U1			Rata- rata	U2			Rata- rata
	1	2	3		1	2	3	
250	1,5	4,15	1,1	2,25	1,3	2,0	2,8	2,03
500	2,6	4,9	2,9	3,47	2,2	2,8	3,6	2,86
750	3,9	5,6	3,2	4,23	3,3	3,3	4,3	3,63
1000	4,6	6,4	3,7	4,90	4,0	3,9	5,3	4,40
1250	6,3	7	6,1	6,46	4,9	5,0	6,6	5,50
Kontrol (+)			8,6				10,1	
Kontrol (-)			0				0	

b. Sonikasi Kering Angin

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Zona Hambat (mm)							
	U1			Rata-rata	U2			Rata-rata
	1	2	3		1	2	3	
250	3,4	0,65	0,3	1,45	1,3	2,5	3,5	2,43
500	4,6	1,6	1,3	2,50	2,4	2,8	4,5	2,90
750	5,5	3,2	2,0	3,56	4,0	2,8	6,0	4,26
1000	6,4	4,5	3,4	4,76	4,4	4,0	7,0	5,13
1250	8,7	5,1	4,4	6,06	4,3	5,7	7,3	5,77
Kontrol (+)			8,9				8,2	
Kontrol (-)			0				0	

c. Maserasi Kering Jemur

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Zona Hambat (mm)							
	U1			Rata-rata	U2			Rata-rata
	1	2	3		1	2	3	
250	1,5	2,75	1,6	1,95	1,3	2,1	1,2	1,53
500	2,3	2,9	2,9	2,70	1,9	4,3	2,0	2,73
750	3,0	3,4	3,7	3,36	2,6	5,1	2,53	3,41
1000	4,5	4,0	4,3	4,26	4,6	3,7	3,0	3,76
1250	5,4	4,4	5,2	5,00	6,3	4,7	3,6	4,86
Kontrol (+)			8,7				8,1	
Kontrol (-)			0				0	

d. Maserasi Kering Angin

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Zona Hambat (mm)							
	U1			Rata-rata	U2			Rata-rata
	1	2	3		1	2	3	
250	1,0	1,4	1,1	1,16	1,5	1,7	1,8	1,67
500	3,0	2,4	1,3	2,23	2,7	2,3	2,8	2,60
750	4,0	3,5	1,8	3,10	3,8	3,0	4,2	3,66
1000	5,4	3,5	1,3	3,40	3,4	4,6	4,4	4,13
1250	6,7	4,3	2,1	4,36	3,7	6,5	5,3	5,16
Kontrol (+)			8,7				7,8	
Kontrol (-)			0				0	

L5.3 Data Hasil Uji Toksisitas

Konsentrasi (ppm)	Jumlah Larva Mati					Modus	% Mortalitas	Mortalitas
	1	2	3	4	5			
0	1	1	2	1	0	1	10	5
25	2	2	3	2	2	2	20	10
50	4	3	3	4	4	4	40	20
100	3	3	5	5	5	5	50	25
200	3	5	6	5	4	5	50	25
400	5	6	7	6	6	6	60	30
DMSO	0	0	3	0	0	0	0	0
pelarut	0	2	1	0	0	0	0	0

Lampiran 6 Hasil Analisa Data

L6.1 Hasil Analisis Anova *Two Way Anova* (SPSS) dan Uji BNT *Anova*

a. Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Ekstraksi_Pengeri ngan	1	SKJ	10
	2	SKA	10
	3	MKJ	10
	4	MKA	10
Variasi_Konsentrsi	1	250	8
	2	500	8
	3	750	8
	4	1000	8
	5	1250	8

b. Descriptive statistics

Dependent Variable: Zona_Hambat

Ekstraksi_Pengeringan	Variasi_Konsentrasi	Mean	Std. Deviation	N
SKJ	250	2.1400	.15556	2
	500	3.1633	.42898	2
	750	3.9150	.44548	2
	1000	4.6500	.35355	2
	1250	5.9800	.67882	2
	Total	3.9697	1.41432	10
SKA	250	1.9417	.69532	2
	500	2.7000	.28284	2
	750	3.9100	.49497	2
	1000	4.9450	.26163	2
	1250	5.9133	.20742	2
	Total	3.8820	1.55485	10
MKJ	250	1.7400	.29698	2
	500	2.7150	.02121	2
	750	3.3850	.03536	2
	1000	4.0100	.35355	2
	1250	4.9300	.09899	2
	Total	3.3560	1.15861	10
MKA	250	1.4133	.35827	2
	500	2.4150	.26163	2
	750	3.3800	.39598	2
	1000	3.7650	.51619	2
	1250	4.7600	.56569	2
	Total	3.1467	1.25162	10
Total	250	1.8087	.43114	8
	500	2.7483	.35986	8
	750	3.6475	.40767	8
	1000	4.3425	.58409	8
	1250	5.3958	.68601	8
	Total	3.5886	1.34687	40

c. Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Zona_Hambat

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	67.671 ^a	19	3.562	23.149	.000
Intercept	515.117	1	515.117	3347.991	.000
Ekstraksi_Pengeringan	4.807	3	1.602	10.414	.000
Variasi_Konsentrasi	61.695	4	15.424	100.246	.000
Ekstraksi_Pengeringan * Variasi_Konsentrasi	1.169	12	.097	.633	.790
Error	3.077	20	.154		
Total	585.865	40			
Corrected Total	70.748	39			

a. R Squared = .957 (Adjusted R Squared = .915)

d. Post Hoc Test

Ekstraksi_Pengeringan

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Zona_Hambat

(I) Ekstraksi Pengeringan			Mean Differe nce (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	SKJ	SKA	.0877	.17542	.958	-.4033	.5787
		MKJ	.6137*	.17542	.011	.1227	1.1047
		MKA	.8230*	.17542	.001	.3320	1.3140
	SKA	SKJ	-.0877	.17542	.958	-.5787	.4033
		MKJ	.5260*	.17542	.033	.0350	1.0170
		MKA	.7353*	.17542	.002	.2443	1.2263
	MKJ	SKJ	-.6137*	.17542	.011	-1.1047	-.1227
		SKA	-.5260*	.17542	.033	-1.0170	-.0350
		MKA	.2093	.17542	.638	-.2817	.7003
	MKA	SKJ	-.8230*	.17542	.001	-1.3140	-.3320
		SKA	-.7353*	.17542	.002	-1.2263	-.2443
		MKJ	-.2093	.17542	.638	-.7003	.2817
LSD	SKJ	SKA	.0877	.17542	.623	-.2783	.4536
		MKJ	.6137*	.17542	.002	.2477	.9796
		MKA	.8230*	.17542	.000	.4571	1.1889
	SKA	SKJ	-.0877	.17542	.623	-.4536	.2783
		MKJ	.5260*	.17542	.007	.1601	.8919
		MKA	.7353*	.17542	.000	.3694	1.1013
	MKJ	SKJ	-.6137*	.17542	.002	-.9796	-.2477
		SKA	-.5260*	.17542	.007	-.8919	-.1601
		MKA	.2093	.17542	.247	-.1566	.5753
	MKA	SKJ	-.8230*	.17542	.000	-1.1889	-.4571
		SKA	-.7353*	.17542	.000	-1.1013	-.3694
		MKJ	-.2093	.17542	.247	-.5753	.1566

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .154.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

e. Homogeneous Subsets

Zona Hambat

			Subset	
	Ekstraksi_Pengeringan	N	1	2
Tukey HSD ^{a,b}	MKA	10	3.1467	
	MKJ	10	3.3560	
	SKA	10		3.8820
	SKJ	10		3.9697
	Sig.		.638	.958

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .154.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

b. Alpha = .05.

f. **Post Hoc Test**

Variasi_Konsentrasi

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Zona_Hambat

(I) Variasi_Konsentrasi			Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	250	500	-.9396*	.19612	.001	-1.5265	-.3527
		750	-1.8388*	.19612	.000	-2.4256	-1.2519
		1000	-2.5337*	.19612	.000	-3.1206	-1.9469
		1250	-3.5871*	.19612	.000	-4.1740	-3.0002
	500	250	.9396*	.19612	.001	.3527	1.5265
		750	-.8992*	.19612	.002	-1.4860	-.3123
		1000	-1.5942*	.19612	.000	-2.1810	-1.0073
		1250	-2.6475*	.19612	.000	-3.2344	-2.0606
	750	250	1.8388*	.19612	.000	1.2519	2.4256
		500	.8992*	.19612	.002	.3123	1.4860
		1000	-.6950*	.19612	.016	-1.2819	-.1081
		1250	-1.7483*	.19612	.000	-2.3352	-1.1615
	1000	250	2.5337*	.19612	.000	1.9469	3.1206
		500	1.5942*	.19612	.000	1.0073	2.1810
		750	.6950*	.19612	.016	.1081	1.2819
		1250	-1.0533*	.19612	.000	-1.6402	-.4665
	1250	250	3.5871*	.19612	.000	3.0002	4.1740
		500	2.6475*	.19612	.000	2.0606	3.2344
		750	1.7483*	.19612	.000	1.1615	2.3352
		1000	1.0533*	.19612	.000	.4665	1.6402
LSD	250	500	-.9396*	.19612	.000	-1.3487	-.5305
		750	-1.8388*	.19612	.000	-2.2479	-1.4296
		1000	-2.5337*	.19612	.000	-2.9429	-2.1246
		1250	-3.5871*	.19612	.000	-3.9962	-3.1780
	500	250	.9396*	.19612	.000	.5305	1.3487
		750	-.8992*	.19612	.000	-1.3083	-.4901
		1000	-1.5942*	.19612	.000	-2.0033	-1.1851
		1250	-2.6475*	.19612	.000	-3.0566	-2.2384
	750	250	1.8388*	.19612	.000	1.4296	2.2479
		500	.8992*	.19612	.000	.4901	1.3083
		1000	-.6950*	.19612	.002	-1.1041	-.2859
		1250	-1.7483*	.19612	.000	-2.1574	-1.3392
	1000	250	2.5337*	.19612	.000	2.1246	2.9429

	500	1.5942*	.19612	.000	1.1851	2.0033
	750	.6950*	.19612	.002	.2859	1.1041
	1250	-1.0533*	.19612	.000	-1.4624	-.6442
1250	250	3.5871*	.19612	.000	3.1780	3.9962
	500	2.6475*	.19612	.000	2.2384	3.0566
	750	1.7483*	.19612	.000	1.3392	2.1574
	1000	1.0533*	.19612	.000	.6442	1.4624

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .154.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

g. Homogeneous Subsets

Zona Hambat

	Variasi_Konsentrasi	N	Subset				
			1	2	3	4	5
Tukey HSD ^{a,b}	250	8	1.8087				
	500	8		2.7483			
	750	8			3.6475		
	1000	8				4.3425	
	1250	8					5.3958
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

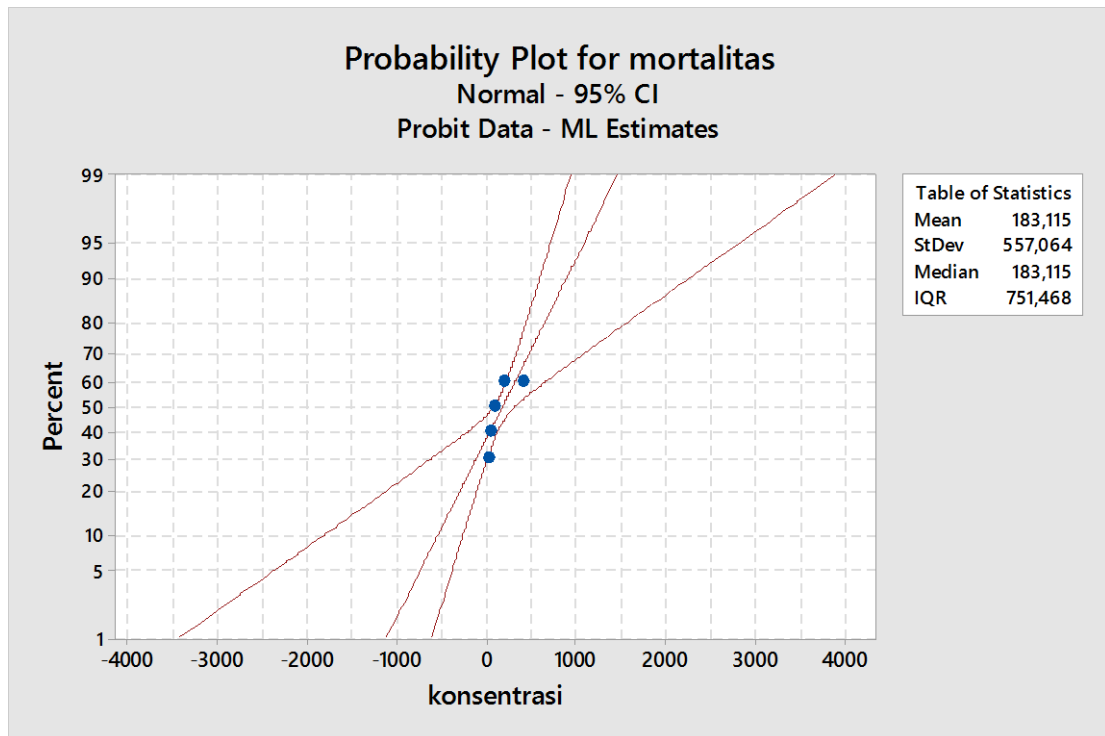
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .154.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

b. Alpha = .05.

L6.2 Hasil Analisis Minitab

Lampiran 7 Dokumentasi

L7.1 Preparasi Sampel



Sampel Daun Kelor
Kering Jemur sebelum
Dikeringkan



Sampel Daun Kelor
Kering Jemur Setelah
Dikeringkan



Sampel Daun Kelor
Kering Jemur Setelah
Dihaluskan



Sampel Daun Kelor
Kering Angin sebelum
Dikeringkan



Sampel Daun Kelor
Kering Angin Setelah
Dikeringkan



Sampel Daun Kelor
Kering Angin Setelah
Dihaluskan

L7.2 Analisa Kadar Air



Pengovenan Cawan
+ sampel



Dimasukkan desikator
Cawan + sampel



Penimbangan
Cawan + sampel

L7.3 Ekstraksi Maserasi dan Sonikasi

L7.3.1 Ekstraksi Maserasi



Sampel Ditimbang
Sebanyak 25 gr



Proses Ekstraksi
Maserasi



Ekstrak disaring



Hasil Filtrat
Ekstraksi maserasi



Filtrat di rotary
Evaporator



Ditimbang ekstrak
Pekat

L7.3.2 Ekstraksi Sonikasi



Sampel Ditimbang
Sebanyak 25 gr



Proses Ekstraksi
Sonikasi



Ekstrak disaring



Ekstrak hasil
Ekstraksi Sonikasi



Filtrat di rotary
Evaporator



Ditimbang ekstrak
Pekat

L7.4 Uji Fitokimia

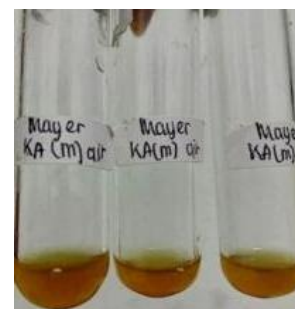
L7.4.1. Ekstrak Maserasi Sampel Kering Angin



Flavonoid



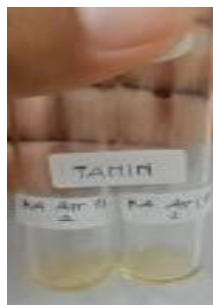
Alkaloid Dragendroff



Alkaloid Mayer



Steroid dan triterpenoid

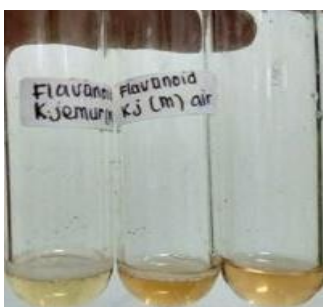


Tanin



Saponin

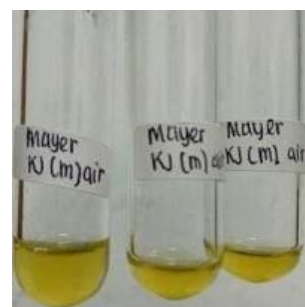
L7.4.2. Ekstrak Maserasi Sampel Kering Jemur



Flavonoid



Alkaloid Dragendroff



Alkaloid Mayer



Steroid dan triterpenoid



Tanin



Saponin

L7.4.3. Ekstrak Sonikasi Sampel Kering Angin



Flavonoid



Alkaloid Dragendroff



Alkaloid Mayer



Steroid dan triterpenoid



Tanin



Saponin

L7.4.4. Ekstrak Sonikasi Sampel Kering Jemur



Flavonoid



Alkaloid Dragendroff



Alkaloid Mayer



Steroid dan triterpenoid



Tanin



Saponin

L7.5 Uji Aktivitas Antibakteri



Pembuatan konsentrasi Ekstrak



Peremajaan Bakteri



Pembuatan Inokulum Stok



Proses Inkubasi Di Shaker



Pembuatan Inokulum Kerja



Proses Pembuatan Nutrient Agar



Proses Pembuatan Nutrient Broth

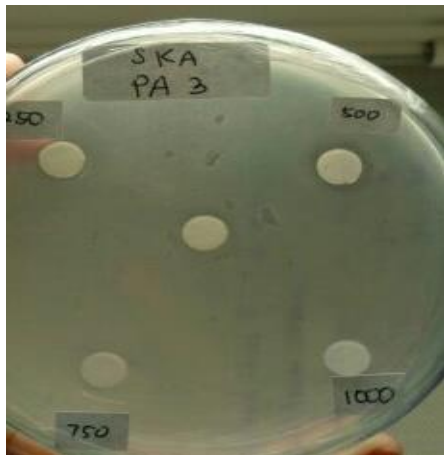


Proses Uji Antibakteri

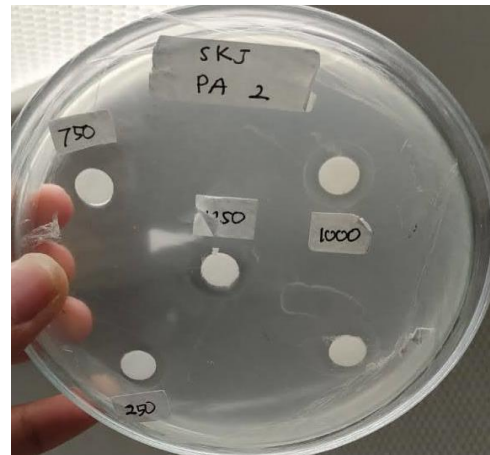


Proses Pengukuran Zona Hambat

L7.6 Hasi Uji Antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*



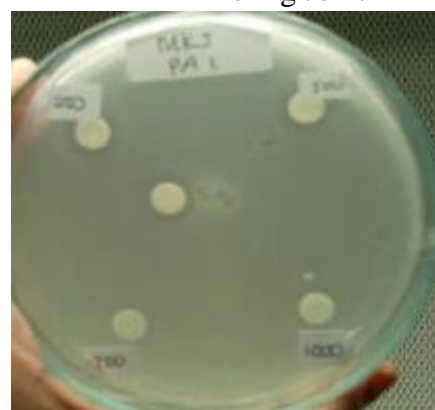
Zona Hambat Ekstrak
Sonikasi sampel
Kering Angin



Zona Hambat Ekstrak
Sonikasi Sampel
Kering Jemur



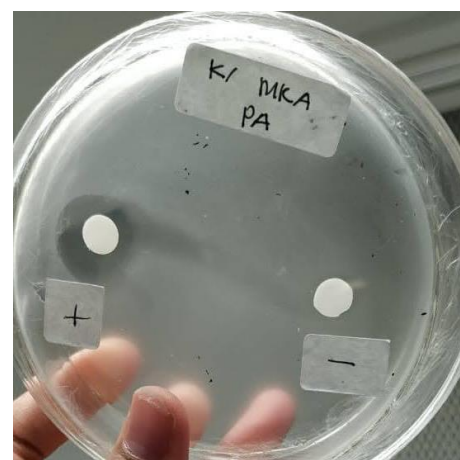
Zona Hambat Ekstrak
Maserasi Sampel
Kering Angin



Zona Hambat Ekstrak
Maserasi Sampel
Kering Jemur



Kontrol Positif dan
Kontrol Negatif Sonikasi



Kontrol Positif dan
Kontrol Negatif Maserasi

L7.6 Uji Toksisitas



Aerasi larva udang
Artemia salina



Pembuatan larutan
Stok



Pembuatan
Konsentrasi Uji



Penambahan DMSO dan
Dan Air Laut kedalam
Vial



Penghomogenan
Dengan Vortex



Memasukkan larva
Kedalam Vial



Uji Toksisitas ekstrak
Selama 24 Jam